

QUELQUES DIFFÉRENCES ENTRE
— DES CELLULES —
D'EXSUDAT POLYNUCLÉAIRES ET
— MONONUCLÉAIRES —

A. BAKKER.

STELLINGEN

QUELQUES DIFFÉRENCES ENTRE DES
CELLULES D'EXSUDAT POLYNUCLÉAIRES ET
MONONUCLÉAIRES.

STELLINGEN.

I.

Er is geen reden bij de differentieering van verschillende soorten witte bloedlichaampjes aan de oxydase-reactie een beslissende betekenis toe te kennen.

II.

Het is zeer onwaarschijnlijk dat de veranderde functie van de carcinoomcel t. o. z. van de moedercel berust op een symbiose van de epitheelcel met een parasiet.

III.

De ganglia van de grensstreng van de sympathicus zijn van mesodermalen oorsprong.

IV.

De normale glomerulismembraan is voor eiwit doorgankelijk.

V.

Het is onjuist bij de acute glomerulonephritis de afwijkingen in de nier op één lijn te stellen met de ziekelijke veranderingen elders in het lichaam.

VI.

Het verdient aanbeveling de malaria-therapie bij dementia-paralytica te laten volgen door een gefractioneerde salvarsan-behandeling.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

QUELQUES DIFFÉRENCES ENTRE
— DES CELLULES —
D'EXSUDAT POLYNUCLÉAIRES ET
— MONONUCLÉAIRES —

ACADEMISCH PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN
DOCTOR IN DE GENEESKUNDE

AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE GRONINGEN, OP GEZAG VAN
DEN RECTOR-MAGNIFICUS Dr. J. A. BARRAU, HOOGLEERAAR IN
DE FACULTEIT DER WIS- EN NATUURKUNDE TEGEN DE BEDEN-
KINGEN DER FACULTEIT IN HET OPENBAAR TE VERDEDIGEN
OP MAANDAG 5 JULI 1926, DES NAMIDDAGS TE 4 UUR DOOR

ABEL BAKKER,
GEBOREN TE HOOGKERK.



AAN MIJNE OUDERS.
AAN MIJNE VROUW.

Gaarne wil ik bij het verschijnen van dit proefschrift een woord van dank richten tot U, Hooggeleerden, Oud-Hooggeleerden en Lectoren van de Geneeskundige en Philosophische Faculteit te Groningen, voor het onderwijs dat ik van U heb mogen genieten.

In de eerste plaats U, Hooggeleerde BUYTENDIJK, Hooggeachte Promotor, betuig ik mijn oprechten dank voor de groote bereidwilligheid waarmede Gij mij steeds behulpzaam waart. Nooit klopte ik bij U te vergeefs om steun aan. Nauwelijks hadt Gij Uw moeilijke taak aan het zoo mooie laboratorium te Groningen op U genomen, of Gij wildet reeds Uwe aandacht schenken aan mijn onderzoekingen en mij voorlichten bij de samenstelling van mijn proefschrift. Mijn diepgevoelde erkentelijkheid U hier aan deze plaats te kunnen betuigen, is mij een groot voorrecht.

Dankbare gevoelens vervullen mij bij de herinnering aan U, Hooggeleerde HAMBURGER, mijn vroeg gestorven leermeester.

Zeergeleerde DE HAAN! Toen ik als jong assistent aan het Physiologisch laboratorium verbonden werd, waart Gij het, die de eerste leiding gaf aan mijn werk. Bij voortduring mocht ik genieten van Uw veelomvattende kennis. De aangename samenwerking met U, tijdens mijn assistenten-tijd, zal ik steeds in dankbare herinnering houden.

Mijn vroegere mede-assistenten dank ik voor de hulp die ik van hen mocht ondervinden.

Ten slotte past het mij zeker een woord van dank te brengen aan het technisch personeel voor de aangename wijze, waarop het mij steeds behulpzaam wilde zijn.

QUELQUES DIFFÉRENCES ENTRE DES CELLULES D'EXSUDAT POLYNUCLÉAIRES ET MONONUCLÉAIRES.

UNE CONTRIBUTION À LA CONNAISSANCE DE LA MOTILITÉ AMIBOÏDE DES LEUCOCYTES POLYNUCLÉAIRES.

PAR

A. BAKKER.

LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE DE L'UNIVERSITÉ DE GRONINGUE.

Dir.: le Prof. Dr. F. J. J. BUYTENDIJK.

SOMMAIRE.

Introduction.....	p.	1
Méthode d'obtention de leucocytes de sang de cheval.....	"	3
Description du matériel de cellules de sang de cheval.....	"	4
Méthode d'obtention de leucocytes d'exsudat chez le lapin.....	"	6
Description du matériel cellulaire fourni par l'exsudat.....	"	8
Analyse de quelques facteurs physico-chimiques ayant une influence sur la motilité amiboïde des leucocytes de cheval.....	"	12
Formation de pseudopodes dans la solution de Ringer.....	"	16
Formation de pseudopodes dans des mélanges à phosphates.....	"	20
Influence de différents autres ions sur la formation de pseudopodes....	"	22
Influence des sels de sodium de quelques acides gras inférieurs sur la formation de pseudopodes.....	"	25
Influence de colloïdes sur la formation de pseudopodes.....	"	28
Examen comparatif de cellules d'exsudat polynucléaires et mononucléaires	"	35
La motilité amiboïde	"	37
Phagocytose des leucocytes d'exsudat.....	"	41
La teneur en glycogène des cellules d'exsudat.....	"	49
Consommation d'oxygène des leucocytes; formation aérobie et anaérobie d'acide lactique.....	"	52
Résumé	"	71
Explication des microphotographies.....	"	72

INTRODUCTION.

Dans une conférence intitulée „Réactions phagocytaires” METCHNIKOFF doit avoir dit: „Nous ne sommes qu'au début. Lorsqu'on connaîtra

mieux la physiologie des phagocytes, on cherchera des méthodes pour augmenter l'activité de ces éléments dans la lutte contre les microbes."

Bien qu'on soit certainement encore loin de la „fin" en ce qui concerne la solution de nombreuses questions relatives aux phénomènes vitaux des cellules blanches du sang, on a cependant publié dans ce domaine des recherches importantes au cours de ces dernières années (WRIGHT, LEDINGHAM, HABERLANDT et beaucoup d'autres encore).

Les recherches faites dans le laboratoire de physiologie de Groningue par HAMBURGER et ses élèves (e.a. HEKMA, DE HAAN, OUWELEEN, BUBANOVIC) constituent également une contribution importante à la connaissance de la biologie des leucocytes.

En résumé, le but principal de mes recherches était d'établir quelques différences „physiologiques" entre les globules blancs du sang dits mononucléaires et ceux dits polynucléaires.

Une ligne de démarcation basée sur de nombreuses données doit être tracée entre les espèces de cellules ainsi dénommées. Ainsi, on rencontre dans des stades déterminés d'inflammation un certain type cellulaire, et notamment, suivant que le processus est plutôt aigu ou bien chronique, on trouve en nombre prédominant les cellules polynucléaires ou les cellules mononucléaires.

En outre, les deux espèces de cellules présentent des différences sous le rapport de la durée de la vie: les cellules d'exsudat polynucléaires manifestent tous les signes de dégénérescence; elles vont rapidement vers la mort; par contre, les cellules mononucléaires ont un caractère de réparation: ce sont les balayeurs de l'exsudat et elles présentent souvent des figures de karyokinèse. Nous trouvons des différences dans la forme extérieure, aussi bien pour ce qui concerne le noyau que le cytoplasme, des différences dans les granulations, la colorabilité, la teneur en ferment, la composition chimique. Cependant, d'un autre côté, les deux espèces de cellules ont tant de points de concordance qu'on les désigne sous le nom commun de „cellules migratrices".

J'ai examiné ces cellules particulièrement aux points de vue suivants: motilité amiboïde, pouvoir phagocytaire, teneur en glycogène, consommation d'oxygène et production d'anhydride carbonique. Les leucocytes du sang se prêtèrent le mieux à l'étude de la motilité amiboïde et de l'influence de différents facteurs physico-chimiques sur ce processus. J'employai pour cela les globules blancs du sang de cheval.

MÉTHODE D'OBTENTION DE LEUCOCYTES DE SANG DE CHEVAL.

J'ai appliqué la méthode employée par HAMBURGER ¹⁾ dans son étude du pouvoir phagocytaire des leucocytes de cheval.

Du sang provenant de la veine jugulaire fut prélevé dans un mélange de citrate et de sel marin contenant 0,7 % de *Na Cl* et 1,1 % de citrate de soude, de manière à avoir 3 parties de sang pour 1 partie de mélange au citrate. HAMBURGER employa au début une plus faible teneur en citrate. DE HAAN ²⁾ recommanda la composition du mélange ci-dessus. Cette forte concentration de citrate lui parut nécessaire pour prévenir la coagulation qui se produisait quelquefois encore avec le mélange primitif. L'emploi d'une plus grande quantité de ce mélange en comparaison de celle du sang prélevé est moins avantageux qu'une augmentation de la teneur en citrate, parce qu'une trop grande quantité de liquide ralentit trop considérablement la vitesse de sédimentation des érythrocytes, ce qui détermine à son tour une séparation insatisfaisante des cellules rouges d'avec les cellules blanches du sang.

Dans la plupart des cas, la sédimentation des érythrocytes est suffisante au bout d'une heure et on peut alors enlever avec une pipette le plasma surnageant, qui est dilué par le mélange au citrate et qui pratiquement ne contient que des leucocytes et des plaques sanguines. Quelques rares cellules rouges restées en suspension n'étaient pas gênantes dans mes expériences.

Une partie des leucocytes ainsi obtenus furent examinés le jour même de leur prélèvement. Une autre partie fut conservée jusqu'au lendemain dans le mélange au citrate initial et mise dans la glacière à 0° C. Quelquefois, mais très rarement, on utilisait encore les cellules le troisième jour.

Les cellules qui n'avaient pas été examinées le jour même furent conservées dans la solution au citrate et on ne les lava pas au préalable dans une solution physiologique de sel marin, parce que c'est dans le mélange au citrate qu'elles se conservent le mieux. On sait que le citrate de soude ralentit toutes espèces de processus cellulaires et retarde aussi la destruction lytique des cellules. Aussi LÖHNER ³⁾, dans ses expériences de phagocytose, dit-il que la conservation des leucocytes à 0° C. dans

¹⁾ H. J. HAMBURGER. *Technik des Arbeitens mit Phagozyten zu biologischen Zwecken*. ABDERHALDEN, *Handb. d. bioch. Arb. Meth.* IX, 1919.

²⁾ *Biochem. Zeitschr.*, **86**, p. 208.

³⁾ LÖHNER, *Pflüg. Archiv*, **162**, p. 129.

un mélange au citrate est la meilleure méthode de les garder en parfait état le plus longtemps possible. Dans ces conditions, les cellules conservent leur vitalité certainement pendant plus de trois jours et sont capables de ramper sur un substratum.

Avant de faire servir les cellules aux différentes expériences, on les lava deux fois au préalable dans une solution physiologique de sel marin, pour les débarrasser du citrate et autant que possible des plaques sanguines. Ceci surtout est nécessaire, parce qu'autrement les leucocytes s'agglomèrent trop. Le lavage consistait en une centrifugation rapide des cellules dans un centrifugeur électrique de RUNNE, avec un nombre de tours de 3000 environ à la minute.

DESCRIPTION DU MATÉRIEL DE CELLULES DE SANG DE CHEVAL.

Il m'a paru tout-à-fait superflu, pour mes expériences, de faire la numération différentielle précise des diverses espèces de leucocytes présentes dans le sang de cheval. Le partage de ces cellules est d'ailleurs le même à peu près chez le cheval que chez l'homme. Dans le mélange au citrate il se trouvait généralement 70^o/_o environ de leucocytes polynucléaires; ce sont ces cellules qui furent prises comme objet pour une étude approfondie des différentes influences agissant sur la motilité amiboïde. Si quelque gros lymphocyte ou quelque grosse cellule de transition nageant dans la préparation incolore a été considéré peut-être comme cellule polynucléaire, vu leur nombre réduit, cela n'a guère pu avoir d'influence sur l'impression totale de la motilité amiboïde des leucocytes polynucléaires.

Parmi ces cellules aux noyaux lobés on rencontra souvent beaucoup — parfois même quelques dizaines de pourcents — de cellules polynucléaires éosinophiles. Ces cellules, qui sont à peu près aussi grandes que les neutrophiles, frappent immédiatement le regard par leurs grosses granulations fortement réfringentes; ces grains présentent une grande affinité pour les substances colorantes acides, notamment pour l'éosine. Ces granulations, dont la grosseur atteint quelquefois 3 à 4 μ , sont parfois de forme ovale, alors que chez l'homme, au contraire, elles ont une forme ronde. Je mentionne ici ces cellules séparément, parce qu'elles se comportent autrement que les neutrophiles au point de vue de la motilité amiboïde. Ainsi, elles ne forment pas, comme ces dernières, des

pseudopodes filiformes, mais elles s'étendent plus ou moins dans leur totalité, ce qui leur fait prendre une forme cylindrique.

Que les petits lymphocytes aussi peuvent former des pseudopodes protoplasmiques et se mouvoir à l'aide de ceux-ci sur un substratum, c'est là un fait positivement reconnu aujourd'hui. Mais je ne m'étends pas sur ce point, parce que la longueur restreinte des pseudopodes de ces cellules ne m'a pas permis de conclure si un liquide déterminé était un milieu plus ou moins favorable à la motilité amiboïde des lymphocytes.

Je désire cependant indiquer ici comment j'ai parfois pu obtenir une suspension ne contenant pour ainsi dire que de petits lymphocytes. Un jour, comme je voulais utiliser les leucocytes qui avaient séjourné pendant 24 h. dans la glacière, je vis que tous les globules sanguins rouges qui étaient encore restés en suspension la veille s'étaient déposés. A l'aide d'une pipette j'aspirai avec précaution le liquide surnageant, dans l'espoir d'obtenir une suspension de leucocytes pure. Je n'obtins ainsi que de petits lymphocytes. Tous les leucocytes polynucléaires et les érythrocytes étaient descendus au fond. Sur une préparation colorée au bleu de méthylène je pus constater aisément que les cellules restées en suspension étaient de petits lymphocytes. Il me parut intéressant d'examiner si toujours, au bout d'un temps déterminé, les lymphocytes seuls restaient en suspension. Si tel était le cas, on disposerait d'une méthode appropriée pour isoler à l'état pur une grande quantité de lymphocytes, ce qui serait important pour toutes espèces d'expériences. Ce serait notamment un point de départ excellent pour obtenir des cultures *in vitro*, pour examiner, par exemple, si ces cellules sont capables de fournir du tissu myéloïde, comme MAXIMOW¹⁾ le montra dans la culture de petits fragments de glande lymphoïde.

Les cellules obtenues de cette manière pourraient également rendre de bons services dans l'étude de la motilité amiboïde des lymphocytes. Ainsi, dans ces derniers temps, CUTCHEON²⁾ a étudié la motilité des lymphocytes dans une goutte de sang emprisonnée entre un porte-objet et un couvre-objet. L'examen serait beaucoup plus aisé avec une simple suspension de lymphocytes. On pourrait alors modifier à volonté le milieu des cellules et examiner l'influence de celui-ci sur la formation

¹⁾ *C. R. Soc. d. Biol.*, **79**, 222, 225 et 235, 1917.

²⁾ *Amer. Journ. of Physiol.*, **LXIX**, juillet 1924.

des pseudopodes. D'ailleurs, on pourrait comparer entre elles des cellules en nombre bien plus grand, ce qui est impossible dans une goutte de sang, à cause du petit nombre de lymphocytes occupant en même temps le champ visuel.

Chaque mélange de plasma et de solution de citrate, après avoir reposé dans la glacière pendant 24 h., fut examiné au point de vue des leucocytes qui y étaient encore en suspension. Dans plus de la moitié des cas étudiés, c'étaient presque exclusivement des lymphocytes avec ça et là encore un leucocyte polynucléaire. Dans les autres cas la numération différentielle de la préparation par étalement, colorée au bleu de méthylène, indiqua au moins 60 % de lymphocytes. Nous ne devons pas nous étonner si les mélanges plasma-citrate ne se comportaient pas tout-à-fait de la même façon au point de vue exposé ci-dessus et contenaient au bout de 24 heures tantôt plus, tantôt moins de lymphocytes, étant donné que les différences de vitesse de sédimentation des diverses espèces de cellules ne sont évidemment pas toujours exactement les mêmes.

Une différence de sexe des animaux soumis à l'expérience, importante pour la vitesse de sédimentation des érythrocytes, ne pouvait expliquer la différence dans la façon de se comporter des mélanges.

Dans ses recherches sur les phagocytes, LÖHNER ¹⁾ parle déjà de la différence de durée de suspension des leucocytes polynucléaires et des lymphocytes dans le mélange de sang de cheval et de citrate. Il dit notamment que suivant que l'instant auquel on enlève à l'aide d'une pipette la suspension de leucocytes du sédiment de globules rouges sanguins tombe plus tôt ou plus tard, le liquide obtenu est moins riche ou plus riche en cellules mononucléaires, c. à d. relativement, par rapport au nombre de leucocytes polynucléaires. Mais il n'ajoute pas qu'il lui fut par là possible d'obtenir une suspension contenant exclusivement des lymphocytes.

MÉTHODE D'OBTENTION DE LEUCOCYTES D'EXSUDAT CHEZ LE LAPIN.

L'injection de substances plus ou moins indifférentes, telles que du bouillon, du sérum étranger, des suspensions de vermillon, de l'aleuro-nate, des solutions de nitrate d'argent et de beaucoup d'autres dans les

¹⁾ LÖHNER, loc. cit.

cavités du corps d'animaux (cavités de l'abdomen, de la plèvre, des articulations) était depuis longtemps déjà une méthode usuelle pour l'obtention de leucocytes d'exsudat. Mais le plus souvent la quantité de pus ainsi récoltée était si faible qu'il fallait tuer l'animal pour pouvoir recueillir l'exsudat par l'ouverture de la cavité en question.

Or, DE HAAN ¹⁾ élaborait une méthode permettant d'obtenir par injections de solutions stériles de sel marin dans la cavité abdominale de lapins, de grandes quantités de leucocytes sans devoir sacrifier les animaux. Le même animal pouvait servir sans inconvénient un nombre illimité de fois.

Dans son étude sur la cause de la migration des leucocytes d'exsudat, pour laquelle il choisit comme matériel d'injection des substances de natures très différentes, FERİNGA ²⁾ trouva comment on a le moyen d'obtenir dans l'exsudat telle espèce de cellules désirée. Il suffit d'injecter des substances difficilement résorbables, telles que de la paraffine liquide, et d'attendre un temps assez long, 7 jours par ex., avant de drainer la cavité abdominale, pour n'obtenir dans l'exsudat que des leucocytes mononucléaires. Mais si l'on draine l'abdomen quelques heures après l'introduction de l'huile de paraffine, on obtient essentiellement des cellules polynucléaires. On obtient identiquement le même résultat par des injections de solutions de sel marin, avec cette seule différence que la quantité de cellules émigrées est beaucoup plus faible dans ce cas; le nombre de leucocytes mononucléaires surtout est alors faible. La différence avec des injections de paraffine, d'huile d'olive ou d'autres graisses n'est donc que graduelle. Il n'est donc pas nécessaire d'admettre, comme BERGEL ³⁾ croit devoir le faire, une action chimiotactique élective des graisses sur le type de cellules lymphocytaires.

Plus l'animal a déjà servi, plus le nombre de cellules d'exsudat qu'il fournit est considérable. J'ai constaté que l'injection de lait dilué (par ex. 300 cm.³ de NaCl 0,9 % + 20 cm.³ de lait) peut remplacer avec succès celle d'huile de paraffine. Dans ce cas encore on trouve au bout de quelques jours un nombre prédominant de cellules mononucléaires. Le lait présente sur l'huile de paraffine cet avantage que la réaction de l'animal est moins vive. A la suite d'injections de paraffine liquide les

¹⁾ J. DE HAAN, Thèse de doctorat, Groningue, 1920, p. 41.

²⁾ K. J. FERİNGA, Thèse de doctorat, Groningue, 1922, p. 41.

³⁾ BERGEL, *Klin. Wochenschr.*, II, 2243, 1925.

animaux n'ont pas d'appétit pendant quelques jours, restent couchés et sont apathiques. Après des injections de lait, au contraire, les animaux ne présentent rien de particulier.

J'ai pris le plus souvent comme matériel d'injections une solution physiologique stérile de sel marin. Lorsque mon but était d'obtenir exclusivement des leucocytes mononucléaires en grande quantité, j'injectais 45 cm³. de paraffine liquide stérile ou des dilutions de lait.

En résumé j'opérais comme suit: Dans la cavité péritonéale d'un lapin on injecte 300 cm.³ de *Na Cl* à 0,9%. Au bout d'un temps variable (quelques heures à quelques jours) on injecte de nouveau 300 cm³. de liquide. On masse ensuite le ventre à différentes reprises pour libérer autant que possible les cellules de la surface des organes abdominaux et à l'aide d'un siphon on retire, après quelques minutes, le liquide contenu dans l'abdomen. Pour prévenir la coagulation, on recueille l'exsudat dans le même mélange au citrate que celui utilisé pour le sang de cheval. On lave ensuite deux fois les cellules dans le centrifugeur avec la solution physiologique de sel marin. Les cellules furent examinées le jour même où elles furent obtenues. Après le lavage, on forme une suspension épaisse à l'aide d'un peu de liquide (*Na Cl* à 0,9 %) et on ajoute une quantité déterminée de cette suspension à la solution destinée à l'examen.

DESCRIPTION DU MATÉRIEL CELLULAIRE FOURNI PAR L'EXSUDAT.

Comme je l'ai déjà fait remarquer, on peut faire en sorte que pratiquement l'exsudat contienne exclusivement des cellules polynucléaires. Si nous examinons alors une goutte de cette suspension au microscope après addition d'une goutte de solution de Lugol, nous voyons que toutes les cellules, sans distinction, sont bourrées de granulations brun-noirâtres parmi lesquelles le noyau se montre comme un espace pâle et lobé.

Si la préparation contenant uniquement des leucocytes polynucléaires paraît très uniforme, celle d'un exsudat contenant en nombre prépondérant des cellules mononucléaires présente toujours la plus grande variété. Dans la préparation colorée au Giemsa nous voyons de nombreuses granulations qui sont des restes de leucocytes polynucléaires phagocytés. La question se pose cependant de savoir s'il existe des diffé-

rences physiologiques entre des cellules dont les granulations sont disposées ou colorées de manières différentes, car la signification de ces granulations pour la cellule est encore très obscure. Aussi, il ne me paraît pas recommandable de faire comme SABIN, DOAN et CUNNINGHAM ¹⁾, qui admettent différentes espèces de cellules sur la base de différences dans les granulations. Ces auteurs, se basant essentiellement sur des différences de disposition et de quantité des granulations qui se manifestaient après une coloration vitale à l'aide de rouge neutre et de vert Janus, admettent deux types cellulaires dans l'exsudat provenant de la cavité abdominale de lapins, savoir des clasmatoocytes et des monocytes.

Pour déterminer en pourcents le nombre de leucocytes polynucléaires présents dans l'exsudat, on fit toujours en premier lieu une préparation humide dans laquelle on colora les cellules à l'aide d'une solution de Lugol. L'impression produite par ces préparations semblait prouver qu'en réalité nous n'avions affaire, pour ce qui concerne les mononucléaires, qu'à une seule espèce de cellules, sauf peut-être quelques rares grandes cellules, au protoplasme extrêmement pâle et transparent et à noyau rond. Ces cellules, beaucoup plus blanches que les autres cellules mononucléaires, colorées en jaune par l'iode, sont plates et non sphériques comme les autres. Selon toute probabilité ce sont des cellules de membranes séreuses desquamées et en voie de dégénérescence.

Les autres cellules mononucléaires de l'exsudat ne présentaient pas toujours le même aspect. Celui-ci dépendait de l'âge de l'exsudat. S'il a moins de 24 h., les cellules sont, en majeure partie, teintées d'une couleur homogène brun-jaunâtre pâle. Quelques rares cellules ont absorbé un leucocyte polynucléaire, reconnaissable à ses granulations brunes et gisant, sous forme d'une petite boule, dans la grande cellule. A ce stade, ces leucocytes phagocytés sont encore nettement reconnaissables comme cellules, pour autant qu'on examine le matériel frais, coloré à l'iode. Dans des préparations par étalement, fixées dans l'alcool absolu et colorées ensuite suivant Giemsa, ces cellules phagocytées sont devenues beaucoup moins nettes. Il arrivait quelquefois qu'on pouvait encore distinguer le noyau lobé de la cellule polynucléaire au milieu du protoplasme du leucocyte mononucléaire. Mais généralement on voit encore quelques fragments nucléaires comme de grossières granulations, souvent

¹⁾ *Proceed. Soc. f. Exp. Biolog. and Med.*, XXI, 19 mars 1924.

entourés d'une plage claire, se présentant comme une vacuole dans laquelle, lors de la coloration vitale au rouge neutre, la substance colorante s'accumule fortement. Le protoplasme vivant des cellules mononucléaires reste lui-même incolore.

La microphotographie n°. 1 montre clairement la différence entre le protoplasme des cellules mononucléaires et polynucléaires. Elle se rapporte à des cellules d'un exsudat de moins de 24 h., qui contenait 20% de leucocytes mononucléaires. Les cellules, après avoir été lavées, ont été fixées par une goutte d'acide osmique ($1/2$ %) et ensuite colorées à la solution de Lugol. Les cellules polynucléaires, bourrées comme elles le sont de granulations colorées en brun par l'iode, laissent passer peu de lumière, ce qui fait que sur la photo elles se présentent comme de petites taches noires (b). A ce stade inflammatoire, le protoplasme des cellules mononucléaires n'est pas granulé et beaucoup moins jaune, de sorte que ces cellules sont bien transparentes. On voit très clairement sur la photo un petit bord clair autour du noyau plus foncé de ces cellules (a).

Quand l'exsudat est un peu plus âgé, le protoplasme des grandes cellules mononucléaires d'exsudat contient aussi des granulations colorées en brun par l'iode, restes de polynucléaires phagocytés. En effet, ces cellules phagocytées, par suite de la digestion intracellulaire, se désagrègent au bout de peu de temps, et alors se forment les nombreuses inclusions cellulaires que ces macrophages contiennent toujours en si grande quantité.

La microphoto n°. 2 montre des cellules d'un exsudat âgé de 4 jours, obtenu à la suite d'injections de sel marin. Le liquide contenait uniquement des leucocytes mononucléaires. Comme dans toutes les autres préparations, les cellules furent fixées par l'acide osmique, mais elles ne furent pas colorées par l'iode. Si nous comparons cette photo à la première, nous voyons que maintenant le protoplasme des cellules mononucléaires est granulé. En a se trouve un érythrocyte.

Le protoplasme du gros macrophage de la photo n°. 3 est aussi fortement granulé.

Comme certains auteurs, notamment HAIDENHEIN ¹⁾, l'ont déjà mis en lumière, une grande partie des granulations surtout colorables vitalemment doivent être certainement considérées comme une phase de digestion du matériel phagocyté.

¹⁾ Voir e. a. Handb. d. Allgem. Pathol., KREHL u. MARCHAND, Bd. III, Abt. 1, pp. 64 et 65.

Les polynucléaires étaient parfois phagocytés par les cellules mononucléaires en quantités tellement abondantes, que ces dernières en étaient littéralement bourrées. Cela ressort très nettement de la microphoto n°. 4, où les leucocytes polynucléaires sont accumulés comme de petites boules dans les grandes cellules. C'est surtout en opérant de la manière suivante que cette importante phagocytose cellulaire s'observe le mieux. On injecte 300 cm³. de *Na Cl* à 0,9 % chez un lapin ayant déjà subi des injections répétées. Au bout de 2 jours, l'exsudat contient essentiellement des cellules mononucléaires. Nous ne vidons toutefois pas la cavité péritonéale, mais nous injectons de nouveau 300 cm³. de *Na Cl* à 0,9 %. Cette solution agit alors comme une excitation, déterminant un nouvel afflux de leucocytes polynucléaires. Si 24 h. après la dernière injection nous injectons de nouveau dans la cavité abdominale 300 cm³. d'une solution physiologique de *Na Cl* et si nous aspirons immédiatement cette solution hors de la cavité abdominale, nous voyons que la plupart des cellules mononucléaires ont englobé de nombreux leucocytes polynucléaires.

Comme je l'ai déjà fait remarquer, les préparations n'ont pas été colorées toutes à l'iode, mais on en colore aussi au Giemsa. A cet effet, des préparations par étalement furent fixées pendant $\frac{1}{2}$ h. dans de l'alcool absolu, puis plongées pendant 30 minutes dans le colorant de Giemsa. Ces préparations, de même que les cellules fraîches colorées à l'iode, donnent l'impression qu'on a affaire à une seule sorte de cellules. Les cellules ont cependant des dimensions fort variables. Il y en a notamment de la grandeur d'un petit lymphocyte, et comme autre extrême il y a des cellules avec un diamètre de 20 à 30 μ . Entre ces limites extrêmes on voit toutes les dimensions intermédiaires. Si le lapin n'a encore servi qu'une seule fois, c'est le plus souvent la petite forme qui prédomine, mais il n'y a pas de règle fixe à donner à ce sujet. Le protoplasme des cellules d'exsudat mononucléaires est basophile, homogène. Si l'exsudat est plus âgé, le protoplasme renferme des granulations grossières et fines, dues aux restes de digestion des leucocytes polynucléaires phagocytés. Le noyau est rond, ovale ou bossué. Il présente parfois un étranglement si profond qu'il ressemble à celui d'un leucocyte polynucléaire. On observe quelquefois de nombreuses figures de karyokinèse. Si l'exsudat est vieux (de quelques jours), on rencontre le plus souvent des cellules ayant plus d'un noyau, de temps en temps même une espèce de cellule géante, renfermant 5 noyaux bien colorés avec un

réseau de chromatine bien net et distribués à la périphérie d'une manière excessivement régulière.

Les cellules colorées à l'iode aussi bien que celles colorées suivant la méthode de Giemsa ne font pas l'impression de se trouver dans un état de dégénérescence. En effet, outre qu'elles sont parfaitement colorables et qu'elles présentent un aspect irréprochable, on y voit souvent des figures de division mitotique, ce qui ne plaide pas en faveur d'une dégénérescence. Ce qui prouve sûrement l'intégrité de ces cellules, c'est bien le fait qu'à l'extérieur du corps elles sont capables de former de magnifiques fibroblastes, comme DE HAAN ¹⁾ l'a montré par ses cultures in vitro.

ANALYSE DE QUELQUES FACTEURS PHYSICO-CHIMIQUES AYANT UNE INFLUENCE SUR LA MOTILITÉ AMIBOÏDE DES LEUCOCYTES DE CHEVAL.

La motilité amiboïde des leucocytes polynucléaires, ainsi appelée par analogie avec les mouvements d'une amibe, est une des propriétés les plus remarquables de ces cellules. Elle fut découverte par WHARTON JONES en 1846 et décrite encore une fois plus tard par DAVAINÉ ²⁾. Depuis lors, de nombreux chercheurs étudièrent les diverses influences qui sont capables de favoriser ou d'inhiber cette motilité.

ATHANASIU et CARVALLO ³⁾ montrèrent l'influence accélératrice d'une solution de peptone de Witte à 10⁰/. DEMON ⁴⁾ étudia l'action du chloroforme. D'autres, RANVIER e. a., signalèrent l'influence importante de la tension de l'oxygène.

L'importance des rayons lumineux pour la motilité amiboïde des leucocytes n'est pas encore établie avec certitude.

POLICARD et LERICHE ⁵⁾ admettent que les leucocytes polynucléaires présentent une réaction phototactique négative.

COMANDON ⁶⁾ aussi arrive à cette conclusion. Comme on le sait, cet auteur fixa objectivement, à l'aide de magnifiques épreuves cinémato-

¹⁾ *Ned. Tijdsch. v. Geneesk.*, 68 I, n°. 19, 1924.

²⁾ *C. R. Soc. d. Biol.*, 1850, p. 103.

³⁾ *C. R. Soc. d. Biol.*, mars 1896.

⁴⁾ *Arch. d. Biolog.*, 1895.

⁵⁾ *C. R. Soc. d. Biol.*, décembre 1917.

⁶⁾ *C. R. Soc. d. Biol.*, 1917, p. 316.

graphiques, les mouvements que les leucocytes effectuent lors de la phagocytose. Il trouva ainsi que l'éclairement ne pouvait pas être trop intense dans ces épreuves, parce qu'autrement les cellules étaient paralysées.

L'action fortement destructrice des rayons X et des rayons du radium sur les organes hémopoïtiques est suffisamment connue. Toutefois cette action est probablement de nature complexe; en effet, JOLLY ¹⁾ e. a. a montré que l'irradiation de leucocytes *in vitro* n'a aucune influence sur leurs manifestations vitales, notamment leurs mouvements amiboïdes.

Mes recherches sur la motilité amiboïde portent essentiellement sur l'influence que produisent sur cette propriété des leucocytes polynucléaires de cheval des modifications dans le milieu environnant, surtout en ce qui concerne son degré d'acidité.

Mon point de départ fut la réflexion suivante. Dans ses expériences sur le pouvoir phagocytaire des globules blancs du sang de cheval, DE HAAN avait été frappé de ce que ces cellules qui sont rondes, ou tout au moins presque rondes, dans une solution physiologique de $NaCl$, acquièrent de longs pseudopodes lorsqu'on ajoute du sérum, même en dilutions relativement fortes (sérum + $NaCl$ 0,9 % $1/20$).

Analysant de plus près ce phénomène, il crut pouvoir affirmer que cette action favorisante du sérum est due en partie à la présence du bicarbonate, en partie aussi aux colloïdes, tandis que le potassium et le calcium n'exercent aucune influence. En tout cas, la réaction du milieu doit être à peu près neutre.

Dans un ultrafiltrat de sérum et aussi dans la solution de Ringer modifiée suivant BRINKMAN ²⁾, il constata la formation de pseudopodes tout aussi longs et multiples que dans le sérum. Ici encore il fallait que la réaction de la solution fût à peu près neutre. DE HAAN y arriva en faisant passer dans le liquide un courant d'anhydride carbonique, ce qui permettait d'atteindre une concentration en ions H correspondant plus ou moins à celle du sang. Il employa, comme indicateur, le rouge neutre.

La question de savoir quel est le facteur essentiel qui doit être rendu responsable de l'influence favorable que le sérum exerce sur l'émission de pseudopodes ne me paraissait pas complètement résolue. Quel rôle les colloïdes jouent-ils dans cette action? S'agit-il d'une action stimulante spécifique de l'anhydride carbonique? Ou bien le phénomène est-

¹⁾ JOLLY et LACASSAGNE, *C. R. Soc. d. Biol.*, 89, n°. 24, 1923.

²⁾ *Biochem. Zeitschr.*, 108, 35, 1920.

il dû à ce que le sérum et aussi la solution de Ringer et l'ultrafiltrat contiennent une solution balancée de sels? D'autres mélanges tampons constitueront-ils donc aussi un milieu tout aussi approprié aux leucocytes, sous le rapport tout au moins de leur pouvoir de former des pseudopodes de protoplasme?

Ou est-ce en définitive uniquement une concentration déterminée d'ions H qui joue un rôle prépondérant?

Ces différentes questions constituèrent le fil conducteur dans le développement de mes recherches.

J'ai déterminé par la méthode des indicateurs le degré d'acidité, c. à d. la concentration actuelle des ions H , des liquides à employer. Cette méthode, perfectionnée surtout par SÖRENSEN ¹⁾, était suffisamment précise pour le but que je poursuivais. J'ai employé les indicateurs tels qu'ils sont renseignés par CLARK et LUBS ²⁾. Je fis usage de temps en temps du comparateur de WALPOLE ³⁾, lorsque la couleur propre du liquide était gênante. Voici les indicateurs employés:

Pourpre de bromocrésol	$P_H = 5.2$ à 6.8
Bleu de bromothymol	„ = 6 „ 7.6
Rouge de phénol	„ = 6.8 „ 8.4
Rouge de crésol	„ = 7.2 „ 8.8
Bleu de thymol	„ = 8 „ 9.6

Des leucocytes de cheval préalablement lavés deux fois avant l'examen, je formai une suspension épaisse à l'aide de $NaCl$ à $0,9\%$ et de cette suspension j'ajoutai une quantité déterminée, le plus souvent $0,2\text{ cm}^3$, à 3 cm^3 , de tous les liquides dont je voulais examiner l'action. Ce liquide se trouvait dans des éprouvettes d'environ 5 cm^3 de capacité, fermées par un bouchon rodé. Ces éprouvettes, disposées sur une étagère, furent plongées dans une cuve renfermant de l'eau à 37° C . environ. Cette cuve à son tour fut placée dans une étuve dont la température oscillait entre 37° et 39° C . La faible différence de température de 2° C . n'avait pas, dans mes expériences, une influence sensible sur la motilité amiboïde des leucocytes. La technique que je viens de décrire brièvement

¹⁾ *Biochem. Zeitschr.*, **21**, 131, 1909.

²⁾ The determination of Hydrogen ions. W. M. CLARK, Baltimore.

³⁾ MICHAËLIS, *Praktikum der physikal. Chemie*, Berlin, 1921.

est la même que celle utilisée par HAMBURGER ¹⁾ dans ses expériences sur la phagocytose.

Les leucocytes restaient pendant 20 minutes dans l'étuve et pendant ce temps on les agita 2 ou 3 fois vigoureusement pour remettre en suspension les cellules qui étaient tombées au fond. Au bout des 20 minutes, on fixa les cellules à l'aide de 2 gouttes d'une solution aqueuse de tétroxyde osmique à $1/2\%$, en veillant à ce que les cellules ne fussent pas exposées d'abord à l'air froid extérieur.

Comme criterium pour juger dans quel milieu les leucocytes pouvaient le mieux émettre des prolongements, j'ai pris le nombre et la longueur de ces pseudopodes. Il va de soi que cette méthode de mesure n'a pas le mérite d'une grande précision, mais la nature de l'examen ne permettait pas d'exprimer les résultats en nombres. Aussi n'est-ce qu'en se basant sur des différences très nettement apparentes qu'on peut conclure jusqu'à quel point un liquide exerce, ou non, une influence avantagense sur la formation de pseudopodes. Néanmoins, je préférerais cette méthode à celle dans laquelle la reptation des leucocytes, leur locomotion donc, sert de mesure au mouvement protoplasmique. Dans ce dernier cas, en effet, nous avons encore affaire, comme DE HAAN ²⁾ le fait remarquer, à un troisième facteur, inconnu, savoir l'adhésion entre le substratum et le leucocyte. Nous pourrions donc constater une absence de mouvement là où le leucocyte, sans l'action embarrassante du substratum, du porte-objet par ex., eût été capable d'émettre des pseudopodes.

Ainsi FRIEDEMANN et SCHÖNFELD ³⁾ ne constatèrent des mouvements amiboïdes que dans des substances très visqueuses, entre autres dans une solution de gomme arabique à 8% , alors que cependant les cellules étaient en état de former de longs pseudopodes même dans de l'ultrafiltrat.

Les globules sanguins blancs ne présentaient pas dans toutes les suspensions une motilité amiboïde également forte. Je n'ai pas établi — le nombre de chevaux nécessaires à cet effet aurait dû être trop grand — si la cause en était une inégale sensibilité des cellules aux traitements artificiels, pas tout-à-fait inoffensifs d'ailleurs, tels que centrifugation

¹⁾ H. J. HAMBURGER dans ABDERHALDEN, Handb. d. Biochem. Arb. Meth., IX, 1919.

²⁾ Arch. Néerl. d. Physiol., VI, 3^e livr., p. 400, 1922.

³⁾ Biochem. Zeitschr., 80.

et lavage, que les cellules avaient à subir, ou si les cellules étaient par elles-mêmes douées d'une motilité plus ou moins grande. C'est pourquoi j'ajoutai en manière de contrôle, dans presque toutes les séries d'expériences, un liquide de comparaison que l'on savait être un milieu approprié aux cellules, par ex. une solution de Ringer de $P_H = 7.2$ ou du sérum avec $\frac{1}{5}$ de $NaCl$ à 0,9 %, et je comparai la motilité amiboïde qu'il donnait à celle dans les liquides à examiner.

Les substances suivantes furent successivement examinées:

1. Solution de Ringer. ¹⁾
2. Mélanges à phosphates.
3. Solutions isotoniques de différents sels alcalins neutres.
4. Solutions isotoniques de sels de sodium de quelques acides gras inférieurs.
5. Liquides contenant différents colloïdes.

Le résultat de ces recherches est communiqué ci-dessous.

FORMATION DE PSEUDOPODES DANS LA SOLUTION DE RINGER.

J'ai examiné tout d'abord comment les cellules se comportaient dans une solution physiologique de sel marin et dans la solution de Ringer, afin de faire, avec plus de précision que DE HAAN ne le fit auparavant, la détermination de l'influence du carbonate, des ions H , etc.

La solution de $NaCl$ à 0.9 % était par elle-même un peu acide, l'eau distillée qui servit à sa préparation étant acide. Par addition de différentes quantités de lessive de soude on obtint un P_H déterminé.

Pour la solution de Ringer on obtint une concentration déterminée d'ions H en ajoutant chaque fois à une même quantité de solution de Ringer dans laquelle on n'avait pas fait passer du CO_2 , une quantité différente de solution préalablement saturée d'acide carbonique. Cette saturation fut obtenue en faisant passer dans le liquide, pendant quelque temps, de l'anhydride carbonique provenant d'un cylindre.

¹⁾ Dans toutes les expériences, on employa le Ringer tel qu'il est recommandé par BRINKMAN et ayant donc la composition suivante:

$NaCl$ 0.7, $NaHCO_3$ 0.2, KCl 0.02, $CaCl_2$.6 aq. 0.02 %.

Les résultats sont consignés dans le tableau I.

TABLEAU I.

Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
<i>Na Cl</i> 0.9% + <i>Na OH</i>	8.2	cellules rondes
" "	7.8	" "
" "	7.4	" "
" "	7	" "
Ringer + CO_2	8.2	" presque rondes
" "	7.8	petits pseudopodes
" "	7.4	pseud. relativ. grands
" "	6.8	longs pseudopodes

A la fin de l'expérience, le degré d'acidité des différentes substances était toujours devenu un peu plus élevé, par suite des échanges nutritifs des leucocytes. La concentration des ions *H* dans les cellules elles-mêmes ne fut pas déterminée.

Les leucocytes d'un autre cheval dans du Ringer dont le degré d'acidité oscilla entre des limites un peu plus étendues, donnèrent le même résultat. Il est communiqué dans le tableau II.

TABLEAU II.

Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
Ringer	9.8	cellules presque rondes
" + CO_2	7.8	petits pseudopodes
" "	7.4	pseud. relativ. grands
" "	6.8	longs pseudopodes
" "	6.6	" "

On voit par ces deux tableaux que dans la solution de sel marin les cellules restent rondes ou presque rondes, tandis qu'elles émettent de longs pseudopodes dans la solution de Ringer. JOLLY¹, rapporte que dans ces deux liquides les leucocytes de mammifères et de batraciens se comportent à peu près de la même façon pour ce qui regarde leur pouvoir d'émettre des pseudopodes. Il n'observa pas de prolongements dans des

¹) J. JOLLY, Traité d'hématologie, t. I, p. 248.

dilutions de 1 partie de sang sur plus de 100 parties des deux liquides précités. Il dit notamment: „On n'observe pas de différences bien considérables en remplaçant la solution chlorurée isotonique par les liquides de Locke et de Ringer.” Ce fait doit, sans doute, s'expliquer comme suit: ou bien il prit la locomotion comme critérium, ou bien il négligea d'obtenir un degré d'acidité convenable. En effet, les tableaux montrent nettement que la motilité amiboïde est fortement dépendante du degré d'acidité. JOLLY n'a pas — il ne le dit pas, du moins — fait passer de l'anhydride carbonique à travers la solution, ce qui fait que celle-ci aura eu probablement une réaction trop alcaline.

Dans les deux tableaux les cellules émettent, dans la solution de Ringer, les plus grands pseudopodes pour un P_H inférieur à 7.4. Elles forment même de nombreux et longs pseudopodes pour $P_H = 6.6$. Les cellules sont alors étirées dans toute leur étendue et ont pris la forme de boudins.

Cette grande motilité amiboïde dans le cas d'une réaction acide fut également constatée par WALLACE O'FENN¹⁾ chez des leucocytes d'exsudat provenant de la cavité péritonéale de rats. Il rapporte que la motilité des cellules est plus considérable pour $P_H = 6$ que pour $P_H = 7$. Il n'examina pas les cellules en suspension libre dans un liquide, mais il les fit ramper sur un porte-objet. A la même page, il fait remarquer que les leucocytes sont quelquefois étirés dans toute leur étendue et atteignent une longueur de 50 à 100 μ . Il explique ce phénomène en admettant comme TAIT²⁾ une „disturbance in the coordination of the cell”, de telle nature que le leucocyte veut se déplacer subitement dans deux directions opposées. Chacun des deux pseudopodes opposés resterait continuellement en contact avec le porte-objet, ce qui déterminerait l'extension du leucocyte. Que cette explication ne soit pas la seule possible, cela ressort nettement du fait que les mêmes cellules étirées, boudinées, se forment lorsqu'elles flottent librement dans un liquide et ne reposent pas sur une surface solide.

Les cellules d'un autre cheval furent examinées le second jour (voir le tableau III). Chez ces leucocytes, qui avaient donc séjourné 24 h. dans la glacière, nous trouvons également une émission plus intense de pseudopodes pour un degré d'acidité plus élevé.

¹⁾ *Journ. Gen. Physiol.*, V, 177, nov. 1922.

²⁾ *Quart. Journ. Exp. Physiol.*, XII, 1, 1918—1920.

TABLEAU III.

Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
Ringer	9.8	cellules rondes
" + CO_2	8.2	" presque rondes
" "	7.8	petits pseudopodes
" "	7.4	pseud. relativ. grands
" "	6.6	longs pseudopodes
" "	6.2	" "

Pour savoir maintenant si l'anhydride carbonique est absolument indispensable à la formation des pseudopodes, j'ai cherché un milieu favorable sans CO_2 . A cet effet, j'ai fait des combinaisons de mélanges de phosphates en quantités variables en ajoutant chaque fois une solution isotonique de phosphate primaire à une solution isotonique de phosphate secondaire. La solution de phosphate primaire contenait 14,17 gr. au litre, celle de phosphate secondaire 18,53 gr. au litre.

Mais au préalable je fis encore l'expérience suivante. Les cellules furent étudiées après un séjour de 30 minutes dans un mélange de solution de Ringer et de phosphate primaire. On arrive ainsi, en somme, au même résultat que si on amenait de l'anhydride carbonique dans le Ringer, attendu que le phosphate primaire libère du bicarbonate de l'anhydride carbonique. Mais on peut ainsi examiner directement si le phosphate lui-même a une action inhibitrice, ou non, sur la formation de pseudopodes (voir tableau IV).

TABLEAU IV.

Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
Ringer + $KH_2 PO_4$	8.2	petits pseudopodes
" "	7.8	" "
" "	7.4	pseudop. relativ. grands
" "	6.8	longs pseudopodes

Si nous comparons ce résultat à ceux des tableaux précédents, nous constatons qu'il n'existe absolument aucune différence entre l'action du Ringer à anhydride carbonique et celle du Ringer à phosphate primaire. En aucun cas il n'y a la moindre indication d'une influence nuisible

du phosphate sur les cellules. La chose était d'ailleurs à présumer: on se rappellera que DEETJEN¹⁾ trouva précisément une augmentation de la motilité amiboïde des leucocytes lorsqu'il ajoutait à son agar, outre du métaphosphate de soude ($NaPO_3$), du phosphate de potassium secondaire (K_2HPO_4).

FORMATION DE PSEUDOPODES DANS DES MÉLANGES À PHOSPHATES.

J'ai communiqué dans les trois tableaux V, VI et VII le résultat de l'action de mélanges de phosphates sur les leucocytes.

TABLEAU V.

Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
$Na_2HPO_4 + KH_2PO_4$	8.2	cellules presque rondes
" "	7.8	" " "
" "	7.4	petits pseudopodes
" "	6.8	longs pseudopodes

Les leucocytes d'un autre cheval furent examinés le second jour. Le résultat fut à peu près le même. Peut-être la motilité est-elle ici un peu plus faible que dans le tableau précédent. On voit donc que dans ce cas-ci également les leucocytes, malgré leur séjour de 24 h. dans le mélange au citrate à 0°, ont bien conservé leur propriété de la motilité amiboïde (voir tableau VI).

TABLEAU VI.

Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
$Na_2HPO_4 + KH_2PO_4$	9	cellules rondes
" "	7.8	" presque rondes
" "	7.4	petits pseudopodes
" "	6.8	pseud. relativ. grands
Ringer + CO_2	7.2	longs pseudopodes

L'examen fut répété avec des leucocytes frais d'un troisième cheval; il donna la même résultat. Ici le P_H varie entre 9 et 6.2 (voir tableau VII).

¹⁾ DEETJEN, *Virch. Archiv*, **164**, 1901.

TABLEAU VII.

Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
$Na_2 H PO_4$	9	cellules rondes
$Na_2 H PO_4 + KH_2 PO_4$	8.8	" "
" "	8.4	" "
" "	7.8	" presque rondes
" "	7.4	petits pseudopodes
" "	6.6	longs pseudopodes
" "	6.2	pseud. relativ. grands

Les résultats de ces trois tableaux sont donc bien concordants. On peut conclure en premier lieu que l'anhydride carbonique n'est certainement pas un moyen spécifique pour exciter les leucocytes à émettre des pseudopodes. Dans des mélanges de phosphates les cellules sont, en effet, presque aussi actives que dans une solution de Ringer où l'on a fait barboter de l'anhydride carbonique. En second lieu on constate très nettement qu'ici aussi un rôle important est joué par une concentration déterminée d'ions H , comme c'est le cas d'ailleurs pour tant de réactions qui s'effectuent dans le corps. Tout comme dans la solution de Ringer, nous observons ici aussi que l'émission des plus longs pseudopodes correspond à un P_H inférieur à 7.4, donc à une réaction non alcaline.

Cela ne concorde pas avec ce que rapporte SCHWIZER. ¹⁾ Cet auteur trouve la plus forte motilité amiboïde des leucocytes dans un mélange de 2 parties de $NaCl$ à 0.5 % et d'une partie de sang, la réaction étant à peu près neutre. Toutefois, il n'indique pas exactement le degré d'acidité. Il trouve que l'élévation de la concentration des ions H entrave le processus de formation de pseudopodes. Il ramène ce fait à une augmentation de la tension superficielle. Mais, comme il n'indique pas exactement le P_H , il est bien probable qu'il a obtenu après addition d'acide (HCl) un degré d'acidité trop élevé. D'après lui, les leucocytes supportent mieux l'addition d'ions OH , et il ajoute que dans ces conditions ils prennent bientôt des formes vagues et vont adhérer à la paroi. C'est bien là une preuve que l'addition de lessive alcaline a été trop abondante. En tous cas, il ressort clairement des tableaux précédents que les leucocytes ne forment presque pas de pseudopodes du

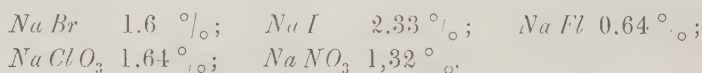
¹⁾ SCHWIZER, *Biochem. Zeitschr.*, **60**, 309, 1914.

côté alcalin du point neutre, mais bien, par contre, du côté acide. Tout comme la solution de Ringer, le mélange à phosphates est un liquide tampon, dans lequel l'addition d'acide détermine le passage d'une partie du phosphate secondaire en phosphate primaire, tandis que l'addition d'alcali provoque le processus inverse. Par là est garantie une valeur assez constante du P_H . Il est difficile de dire jusqu'à quel point cela est important pour la formation de pseudopodes.

INFLUENCE DE DIFFÉRENTS AUTRES IONS SUR LA FORMATION DES PSEUDOPODES.

Dans ses recherches sur le pouvoir phagocytaire des leucocytes humains, RADSMAN¹⁾ a étudié l'influence de différents sels alcalins neutres sur ce processus. Il a découvert ainsi que pour un même cation, Na^+ ou K^+ par ex., l'influence des sels est de telle nature qu'ils peuvent être rangés suivant la série de Hofmeister. Il trouva également une action différente des sels pour un même radical acide et des cations différents (Na , K , Li , Rb , Cs).

Afin de pouvoir étudier de la même manière l'influence de ces sels sur la formation de pseudopodes, j'ai préparé les solutions isotoniques suivantes :



Le comportement des leucocytes dans ces solutions est indiqué dans le tableau VIII.

TABLEAU VIII.

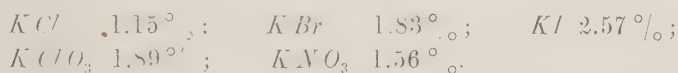
Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
$Na\ Cl\ 0.9\% + Na\ OH$	7.4	cellules presque rondes
$Na\ Br$ + "	"	" " "
$Na\ I$ + "	"	" " "
$Na\ Fl$ + "	"	leucocytes capricieux
$Na\ Cl\ O_3$ + "	"	cellules presque rondes
$Na\ NO_3$ + "	"	leucocytes capricieux
Ringer + CO_2	"	pseud. relativ. grands

¹⁾ RADSMAN, Thèse de doctorat, Groningue, 1919.

J'ai donc examiné quelle était pour un même cation (Na^+) l'influence de différents anions (Cl^- , Br^- , I^- , Fl^- , ClO_3^- , et NO_3^-). Aucune solution ne se montra être un milieu propice à la formation de pseudopodes chez les leucocytes. Certaines solutions étaient même nuisibles, c. a. $NaNO_3$ et $NaFl$. Cette dernière est d'ailleurs bien connue comme poison protoplasmique, le fluor précipitant le calcium des cellules.

On trouve dans le tableau IX la même série que plus haut, sauf que l'ion Na^+ a été remplacé par l'ion K^+ .

De ces sels de potassium je préparai les solutions isotoniques suivantes :

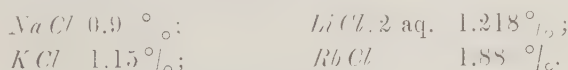


Le résultat de l'action de ces sels sur la formation de pseudopodes est identique à celui de la série précédente (voir tableau IX).

TABLEAU IX.

Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
$KCl + KOH$	7.4	cellules presque rondes
$KBr + "$	"	" " "
$KI + "$	"	" " "
$KClO_3 + "$	"	leucocytes capricieux
$KNO_3 + "$	"	" "

Enfin je fis encore quelques expériences dans lesquelles les solutions salines ne différaient entr'elles que par le cation. Je préparai à cet effet les solutions salines isotoniques suivantes :



Le tableau X fait connaître le résultat.

TABLEAU X.

Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
$NaCl + NaOH$	7.4	cellules presque rondes
$KCl + KOH$	"	petits pseudopodes
$LiCl + NaOH$	"	cellules rondes
$RbCl + "$	"	leucocytes capricieux
Ringer + CO_2	"	pseud. relativ. grands

Nous pouvons donc bien conclure de ces 3 derniers tableaux que les anions et les cations des sels alcalins neutres ci-dessus n'exercent certainement pas une influence favorable sur la formation de prolongements amiboïdes des leucocytes et en outre que toutes les solutions se comportent à peu près de même. En tout cas, il ne peut être question d'un classement d'après l'influence des ions conformément à la série de Hofmeister.

Il est vrai que RADSMa a opéré avec des leucocytes de sang humain et ceux-ci ne sont évidemment pas directement comparables aux leucocytes de cheval. Néanmoins, il me semble qu'il n'est pas trop risqué de considérer la différence entre mes expériences et celles de RADSMa comme une preuve du caractère différent des processus de *phagocytose* et de *mouvement amiboïde*. En effet, RADSMa trouva que les sels mentionnés exerçaient une influence plus ou moins avantageuse sur la phagocytose, alors que dans mes expériences ces sels se comportaient à peu près de même. Je reviendrai plus loin sur les rapports entre la phagocytose et la motilité amiboïde des leucocytes.

Pour étudier également l'action d'un ion bivalent, j'ai examiné la formation de prolongements protoplasmiques par les leucocytes dans une solution isotonique de Na_2SO_4 . Le tableau XI nous apprend le résultat.

TABLEAU XI.

Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
$Na_2SO_4 + NaOH$	8.2	pseudop. relativ. grands
" + "	7.8	" " "
" + "	7.4	" " "
" + H_2SO_4	6.8	petits pseudopodes
Ringer + CO_2	7.2	longs "

Le Na_2SO_4 que j'ai employé n'était pas chimiquement pur. Une solution concentrée de ce sel donnait une réaction alcaline, de sorte qu'il est parfaitement possible que des impuretés sous forme de carbonates aient contribué à la formation de pseudopodes dans l'expérience précédente. Cette question est d'ailleurs facile à trancher, et j'ai reconnu qu'en effet des carbonates avaient joué un rôle. Car en faisant bouillir le sel impur avec de l'acide sulfurique, de manière à transformer les carbonates en sulfates et préparant ensuite avec une lessive de soude des solutions ayant différents degrés d'acidité, j'ai trouvé qu'il ne restait plus grand' chose des prolongements amiboïdes. Et lorsque je me servis

au lieu de sel impur du sulfate de soude pur de Kahlbaum, je constatai aussi que les leucocytes ne forment pas de prolongements ou n'émettent que de petits pseudopodes (voir le tableau XII).

TABLEAU XII.

Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
Na_2SO_4 (bouilli avec H_2SO_4) + $NaOH$	8.2	cellules presque rondes
" (" " ") + "	7.8	petits pseudopodes
" (" " ") + "	7.4	" "
" (" " ") + "	6.8	" "
Na_2SO_4 pur + $NaOH$	8.4	cellules presque rondes
" + "	7.8	" " "
" + "	7.2	petits pseudopodes
" (pas de lessive)	6.2	cellules presque rondes
Sérum de cheval + $NaCl$ 0.9 % $\frac{1}{5}$	7.4	longs pseudopodes

INFLUENCE DES SELS DE SODIUM DE QUELQUES ACIDES GRAS INFÉRIEURS SUR LA FORMATION DE PSEUDOPODES.

Des recherches de HAMBURGER et DE HAAN ¹⁾ ont montré l'action favorisante que les sels de sodium des acides gras inférieurs exercent sur la phagocytose de particules de charbon par des leucocytes de cheval. Ces auteurs ont observé dans leurs recherches que les leucocytes émettent fréquemment des prolongements amiboïdes. J'ai étudié maintenant de plus près l'influence de différents sels sur la formation des pseudopodes.

J'ai préparé des solutions isotoniques du sel de sodium des acides acétique, propionique et butyrique. Les tableaux suivants font connaître le résultat de l'action de ces liquides sur les leucocytes.

TABLEAU XIII.

Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
CH_3COONa . 3 aq.	8.2	cellules presque rondes
" + ac. acét. 3%	7.8	petits pseudopodes
" + "	7.4	longs "
" + "	6.8	petits "
Ringer + CO_2	7.2	grands "

¹⁾ Archiv. f. Anat. u. Physiol., 1913, p. 77.

La solution isotonique de propionate de soude dans l'eau distillée avait un degré d'acidité représenté par la valeur $P_H = 7.4$. Pour obtenir des concentrations différentes des ions H , j'ai alcalinisé d'abord la solution à l'aide d'une trace de $Na OH$ et j'ai réalisé ensuite les P_H désirés par l'addition d'acide propionique (voir tableau XIV).

TABLEAU XIV.

Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
Prop. de soude + $Na OH$ + ac. prop.	8.2	petits pseudopodes
" " "	7.8	pseud. relat. grands
" " "	7.4	" " "
" " "	6.8	cellules rondes
Ringer + CO_2	7.2	longs pseudopodes

Les cellules d'un autre cheval donnèrent à peu près exactement le même résultat (tableau XV).

TABLEAU XV.

Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
Prop. de soude + $Na OH$	8.2	pseud. relativ. grands
" " "	7.8	longs pseudopodes
prop. de soude	7.4	" "
" " + ac. prop.	6.8	cellules presque rondes

Les leucocytes formèrent également d'assez longs pseudopodes dans des solutions de propionate de soude diluées par $\frac{1}{10}$ de sel marin à 0,9%, pour une valeur $P_H = 7.4$. Les cellules produisirent aussi des prolongements dans la solution de butyrate de soude. J'obtins un P_H déterminé par l'addition de HCl (tableau XVI).

TABLEAU XVI.

Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
Butyrate de soude	7.8	pseud. relativ. grands
" " + HCl	7.4	" " "
" " + "	6.8	cellules rondes
Ringer + CO_2	7.4	pseud. relativ. grands

Nous constatons donc que sous l'influence des sels d'acides gras mentionnés les cellules sont bien en état d'émettre des prolongements protoplasmiques. Il ressort clairement des tableaux que le degré d'acidité joue également un rôle ici. Si nous comparons toutefois les quatre derniers tableaux aux précédents, nous remarquons que dans ces derniers cas il n'y a pas de pseudopodes formés pour une valeur de $P_H = 6,8$ — ou bien ils sont très petits —, tandis que dans la solution de Ringer préalablement saturée d'anhydride carbonique et dans les mélanges à phosphates c'est précisément à ce degré d'acidité que correspond le maximum de longueur des pseudopodes.

Le nombre des ions H libres présents dans le liquide ne saurait donc expliquer ce phénomène, dont la cause réside, selon toute probabilité, dans l'action des molécules d'acide gras non dissociées.

HAMBURGER ¹⁾ montra l'influence nuisible de ces acides gras, même en dilutions de $\frac{1}{100.000}$, sur le processus de la phagocytose.

EVANS ²⁾ étudia l'action vénéneuse de quelques acides organiques (notamment des acides citrique, lactique, acétique et butyrique) sur le protoplasme vivant. Il lavait les cellules dans une solution diluée de ces acides et il les laissait phagocyter dans un mélange tamponné de phosphate et de sel marin. Il démontra ainsi la différence de toxicité de ces acides, prouvée par une inhibition plus ou moins forte de la phagocytose.

Maintenant, comment devons-nous expliquer que les leucocytes ont formé des pseudopodes sous l'influence des sels d'acides gras? Il est certain que nous avons affaire ici à un milieu très peu physiologique.

On admet généralement aujourd'hui que le pouvoir des leucocytes d'émettre des pseudopodes repose sur des changements dans la tension superficielle des cellules (QUINCKE, BÜTSCHLI, VERWORN). RHUMBLER ³⁾ surtout est un grand partisan de cette manière de voir. Comme BÜTSCHLI, il suppose que le protoplasme a une structure spumeuse et l'appelle un „heteromorph spumoid”.

Nous ne connaissons pas les processus capables d'influencer cette tension superficielle à l'intérieur des cellules. Mais cette tension superficielle

¹⁾ loc. cit.

²⁾ EVANS, *Journ. of Immunol.*, 7, n°. 33, 1922. On trouve là une bibliographie détaillée.

³⁾ *Ergebn. der Physiol.*, ASHER—SPIRO, 1914.

peut être modifiée par des facteurs extérieurs. Les sels des acides gras inférieurs étant capillairement actifs, on peut expliquer de cette manière leur action sur la formation des pseudopodes.

INFLUENCE DE COLLOÏDES SUR LA FORMATION DE PSEUDOPODES.

Différents auteurs ont attiré l'attention sur la signification des colloïdes pour les mouvements protoplasmiques. Ainsi, OUWEELEN¹⁾ parle d'une influence déprimante que ces substances exerceraient sur la tension superficielle de la cellule. Grâce à cette influence les processus cellulaires internes qui peuvent modifier localement cette tension superficielle, seront bien mieux en état de produire des variations de forme du protoplasme que dans le cas d'une tension superficielle élevée.

FRIEDEMANN et SCHÖNFELD²⁾ voient la signification des colloïdes dans l'influence qu'ils exercent sur la viscosité du liquide. Un mouvement protoplasmique serait impossible sans un certain degré de viscosité. Ils trouvèrent les plus longs pseudopodes dans une solution de gomme arabique à 8‰. Mais la viscosité d'une solution à 12‰ serait déjà trop forte et empêcherait les mouvements. HABERLANDT³⁾ partage la manière de voir de FRIEDEMANN et SCHÖNFELD.

DE HAAN admet aussi une certaine influence des colloïdes sur la formation des pseudopodes, bien qu'il ne pense pas, comme FRIEDEMANN et SCHÖNFELD, que la présence de colloïdes soit une *conditio sine qua non* pour l'émission de prolongements protoplasmiques. La signification qu'il attribue aux colloïdes est basée sur le fait que les leucocytes forment de longs pseudopodes dans une solution de gomme arabique à 7‰ dans du *NaCl* à 0,9‰. Etant donné cependant que les cellules ne déployaient pas une motilité amiboïde plus grande dans le sérum que dans l'ultrafiltrat, et que nous ne pouvons donc constater que très peu de chose d'une influence des colloïdes du sérum, il se pourrait fort bien que dans un ultrafiltrat de la solution de gomme aussi les cellules puissent former des prolongements; ce pourraient être par ex. des impuretés de la gomme arabique, e. a. des traces de carbonates, qui auraient une

¹⁾ OUWEELEN, Thèse de doctorat, Groningue, 1915.

²⁾ FRIEDEMANN et SCHÖNFELD, *Biochem. Zeitschr.*, 80.

³⁾ HABERLANDT, *Zeitschr. f. Biol.*, 69, 1919.

influence avantageuse sur les leucocytes. Pour élucider ce point, j'ai examiné l'influence des colloïdes gomme arabique et gélatine dissous dans une solution physiologique de *Na Cl*, et ensuite l'ultrafiltrat de ces solutions. Les tableaux XVII à XXI font connaître les résultats.

TABLEAU XVII.

Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
<i>Na Cl</i> 0.9% + g. arab. 7% + <i>Na OH</i>	8.2	pseud. relativ. grands
" + " + "	7.8	longs pseudopodes
" + " + "	7.4	" "
" + " + "	6.8	" "
Ringer + CO_2	7.2	" "

Les leucocytes d'un autre cheval furent examinés le troisième jour; ils donnèrent le même résultat (voir tableau XVIII).

TABLEAU XVIII.

Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
<i>Na Cl</i> 0.9% + g. arab. 7% + <i>Na OH</i>	8.2	pseud. relativ. grands
" + " + "	7.8	longs pseudopodes
" + " + "	7.4	" "
" + " + "	6.8	" "

Dans le tableau XIX, les cellules ont formé des pseudopodes un peu plus petits. Cependant, là encore on voit très nettement la grande influence d'une concentration déterminée d'ions *H* sur le processus. La solution de gomme, non additionnée de lessive alcaline, était acide et avait un $P_H = 6$. A ce degré d'acidité, les cellules étaient restées parfaitement rondes (voir tableau XIX).

TABLEAU XIX.

Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
<i>Na Cl</i> 0.9% + g. arab. 7% + <i>Na OH</i>	8.2	petits pseudopodes
" + " + "	7.8	" " 2 > 1.
" + " + "	7.4	pseud. relativ. grands
" + " + "	6.8	" " "
" + " (pas de lessive)	6	cellules rondes

Les cellules du tableau XVII furent encore examinées dans l'ultrafiltrat de la solution de gomme. Dans ce liquide les leucocytes restèrent ronds à tous les degrés d'acidité, tout comme dans la solution physiologique de *Na Cl* (voir tableau XX).

TABLEAU XX.

Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
Ultrafiltrat d/k. sol. gomme + <i>Na OH</i>	8.2	cellules rondes
" " " + "	7.8	"
" " " + "	7.4	"
" " " (p. de lessive)	6.8	"

Avec une solution de gélatine à $1\frac{1}{2}\%$ dans *Na Cl* 0.9% j'obtins les mêmes résultats qu'avec la gomme arabique. Ici aussi il se forme de longs pseudopodes en présence du colloïde, tandis que les cellules restent rondes dans l'ultrafiltrat. En même temps l'influence du degré d'acidité peut être constatée (voir tableau XXI).

TABLEAU XXI.

Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
<i>Na Cl</i> 0.9% + gélat. $1\frac{1}{2}\%$ + <i>Na OH</i>	8.4	pseud. relativ. grands
" + " + "	7.8	longs pseudopodes
" + " + "	7.2	" "
" + " (pas de lessive)	6.8	pseud. relat. grands
Sérum + <i>Na Cl</i> 0.9% $\frac{1}{5}$	7.4	longs pseudopodes
Ultrafiltrat sol. gélatine + <i>Na OH</i>	8.4	cellules rondes
" " + "	7.8	"
" " + "	7.2	"
" " (pas de lessive)	6.8	"

Dans l'ultrafiltrat des solutions colloïdales de gomme arabique et de gélatine dans *Na Cl* 0.9% , les cellules se comportent donc tout-à-fait comme dans la solution physiologique de sel marin: elles restent absolument rondes. Nous pouvons donc bien conclure que les colloïdes favorisent réellement la formation des pseudopodes. Tout comme dans la solution de Ringer et dans les mélanges à phosphates nous observons

ici aussi de longs pseudopodes, même pour un degré d'acidité relativement élevé ($P_H = 6.8$). J'attire tout spécialement l'attention sur ce dernier point, parce que DE HAAN ¹⁾ arriva à la conclusion que les colloïdes du sérum déplacent du côté alcalin l'optimum du degré d'acidité auquel les cellules présentent un maximum de motilité amiboïde; ce qui veut donc dire qu'en présence de colloïdes les leucocytes ne peuvent pas former des pseudopodes à un degré d'acidité aussi élevé que dans les liquides exempts de colloïdes. Il retrouva donc ici ce qu'il croyait avoir trouvé dans le cas de la phagocytose d'amidon.

Il signale e. a. la différence entre le sérum + *Na Cl* 0.9 % $\frac{1}{6}$ et l'ultrafiltrat. Dans le mélange au sérum à réaction alcaline, dit-il, il se forme nettement des pseudopodes, tandis que dans l'ultrafiltrat, pour „cette même” réaction alcaline, les cellules sont rondes. La réaction du sérum alcalin additionné de la solution acide de *Na Cl* doit avoir été à peu près neutre, peut-être légèrement alcaline (le rouge neutre fut coloré en jaune), tandis que le P_H de l'ultrafiltrat doit avoir été égal à 8.8 environ, de sorte que ce liquide doit avoir été assez fortement alcalin.

Or, en faisant passer l'anhydride carbonique par les deux solutions, il observa que les cellules restaient rondes dans le mélange au sérum dans lequel des pseudopodes s'étaient primitivement formés et que de magnifiques prolongements apparaissaient dans l'ultrafiltrat dans lequel, au début, il ne s'était pas formé de pseudopodes.

DE HAAN donne lui-même l'explication de ce fait: dans le mélange de sérum et sel marin, l'action inhibitrice du sérum doit être relativement vite épuisée, de sorte que le passage d'anhydride carbonique doit élever très rapidement le degré d'acidité. Aussi des dilutions de sérum avec de l'ultrafiltrat ne présentent pas du tout de déplacement vers le côté alcalin sous l'influence des colloïdes.

Pourtant, deux pages plus loin, DE HAAN dit que les colloïdes déplacent le processus du côté alcalin. Il croit pouvoir baser cette assertion sur ce qu'il a établi dans le tableau XLVII, p. 119, de sa thèse. Je reproduis ici une partie de ce tableau:

¹⁾ Thèse, p. 118.

Leucocytes frais de cheval, 30 min. à 37° C.

Substances agissantes.	Couleur avec rouge neutre.	Formation de pseudopodes.
1. Sérum + <i>Na Cl</i> 0.9 % $\frac{1}{5}$	jaune	pseudopodes nets
2. " " $\frac{1}{5}$ + CO_2	rose, un peu orangé	" "
3. " " $\frac{1}{20}$	rose orange	" "
4. " " $\frac{1}{20}$ + CO_2	rouge	leucocytes ronds
5. Ultrafiltrat + CO_2 $\frac{6}{8}$	rose	longs pseudopodes
6. " + CO_2 $\frac{5}{8}$	rose orange	" "
7. " + CO_2 $\frac{1}{4}$	orange	" "
8. " + CO_2 $\frac{1}{8}$	orange avec une teinte rosée	pseudopodes assez longs

DE HAAN fait remarquer que dans l'ultrafiltrat (n°. 5) dont la réaction est acide (le rouge neutre était rose), les cellules émettent encore de grands pseudopodes, tandis que dans le sérum + *Na Cl* 0,9 % $\frac{1}{20}$ + CO_2 (n°. 4) les cellules sont restées rondes. Il est vrai qu'ici le rouge neutre était rouge, de sorte que la réaction était certainement plus acide que celle de l'ultrafiltrat, où le rouge neutre était rose. D'ailleurs, le rouge neutre n'est pas un indicateur convenable pour les substances contenant des matières albuminoïdes, parce que l'„erreur d'albumine” est assez forte.

Pour décider si réellement les leucocytes préfèrent, en présence de colloïdes, une réaction plus alcaline pour émettre des pseudopodes, j'ai jugé intéressant de reprendre les expériences de DE HAAN et de déterminer, plus exactement qu'il ne le fit, le degré d'acidité des solutions (voir tableau XXII).

TABLEAU XXII.

Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
1. Sérum + <i>Na Cl</i> 0.9 % $\frac{1}{5}$	7.4	longs pseudopodes
2. " + " $\frac{1}{5}$ + CO_2	6.8	" "
3. " + " $\frac{1}{20}$	7.4	pseud. relativ. grands
4. " + " $\frac{1}{20}$ + CO_2	6.8	" " "
5. Ringer + CO_2	7.4	" " "
6. Ultrafiltrat de sérum	8.8	cellules presque rondes
7. " " + CO_2	6.8	longs pseudopodes

Nous voyons donc (n°. 4) que dans le sérum + $NaCl$ 0.9 % $1/20$ + CO_2 , il se forme bien réellement des pseudopodes tout aussi nets que dans le cas $P_H = 7,4$ (n°. 3), c. à d. dans le même mélange et à la même dilution ($1/20$), mais sans CO_2 . Nous devons toutefois être très prudents dans l'acidification par CO_2 , car un petit excès de cette substance rend immédiatement le degré d'acidité trop élevé.

Les pseudopodes ne sont pas aussi longs que dans les dilutions à $1/5$ (nos. 1 et 2) ou dans les dilutions sérum-ultrafiltrat; mais cela ne doit pas nous étonner, attendu que le sérum est dilué au $1/20$ et que l'influence du bicarbonate et des colloïdes ne peut donc pas avoir été bien grande.

Il est donc fort probable que DE HAAN a ajouté trop de CO_2 à la dilution au $1/20$. Voilà pourquoi j'ai examiné de combien s'élevait le degré d'acidité par saturation à l'acide carbonique. J'examinai en outre si dans des dilutions à $1/5$ aussi le degré d'acidité pouvait s'élever au point que les leucocytes perdaient leur pouvoir d'émettre des prolongements protoplasmiques. Le résultat de cet essai se trouve dans le tableau XXIII.

TABLEAU XXIII.

Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
Sérum + $NaCl$ 0.9 % $1/5$	7.4	longs pseudopodes
{ " + " $1/5$ + CO_2	6.8	" "
{ " + " $1/5$ + CO_2	5.6	cellules rondes
{ " + " $1/10$	7.4	pseud. relativ. grands
{ " + " $1/10$ + CO_2	6.8	" " "
{ " + " $1/10$ + CO_2	5.6	cellules rondes
{ " + " $1/20$	7.4	pseud. relat. grands
{ " + " $1/20$ + CO_2	6.8	" " "
{ " + " $1/20$ + CO_2	5.6	cellules rondes
{ Ultrafiltrat	8.8	" presque rondes
{ " + CO_2	7.4	pseud. relat. grands
{ " + CO_2	6.8	longs pseudopodes

Donc ici aussi des pseudopodes bien développés se forment partout en présence de colloïdes et pour un $P_H = 6,8$. Il n'est donc pas question d'un déplacement par les colloïdes vers le côté alcalin. Nous voyons de plus que nous pouvons paralyser complètement la motilité amiboïde par l'introduction d'anhydride carbonique en quantité suffisante. Mais nous avons obtenu alors un $P_H = 5,6$.

En saturant l'ultrafiltrat par CO_2 , je donnais au liquide un $P_H = 6,2$; dans ce milieu les cellules présentaient une motilité amiboïde énergique. A ce haut degré d'acidité les leucocytes auraient-ils encore le pouvoir de former des pseudopodes, en présence de colloïdes? Tel est le cas, en effet (voir tableau XXIV).

TABLEAU XXIV.

Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
Sérum + NaCl 0.9 % $1/20$	7.4	pseud. relativ. grands
" " $1/20 + CO_2$	6.6	" " "
" " $1/20 + CO_2$	6.2	" " "
Ultrafiltrat de sérum	8.8	cellules rondes
" " " + CO_2	6.8	longs pseudopodes
" " " + CO_2	6.2	" "
Ringer + CO_2	6.2	" "

Si nous examinons encore une fois les trois derniers tableaux, nous ne trouvons pas du tout qu'en présence de colloïdes les leucocytes ne peuvent pas former des pseudopodes à un degré d'acidité aussi élevé que dans les liquides sans colloïdes. D'ailleurs, cela ressort déjà des tableaux XVII, XVIII, XIX et XXI, où les leucocytes ont formé de longs pseudopodes dans des solutions de gomme arabique et de gélatine d'un $P_H = 6.8$. Mais si le degré d'acidité est trop élevé, les cellules restent rondes (voir à ce propos le tableau XIX, où le P_H de la solution de gomme était égal à 6).

Le fait que les leucocytes sont capables de manifester au maximum leur motilité amiboïde pour un degré d'acidité légèrement supérieur au point neutre, même en présence de colloïdes, a encore la signification pratique suivante. Différentes observations de FERINGA ¹⁾ ont montré que les liquides provenant d'inflammations, liquides contenant pour la plus grande partie des leucocytes polynucléaires, qu'ils soient extraits de la cavité pleurale, des méninges ou d'un abcès, ont toujours un exposant d'hydrogène inférieur à 7.4 et sont donc plus acides. Il va de soi qu'il est important que les leucocytes puissent former des pseudopodes même à ce degré d'acidité relativement élevé et ne soient donc pas entravés dans leurs mouvements.

¹⁾ K. J. FERINGA, loc. cit., p. 154.

Bien qu'il soit clairement prouvé maintenant que les colloïdes n'empêchent pas les cellules d'émettre des pseudopodes à un degré d'acidité aussi élevé que dans des liquides sans colloïdes, il est cependant encore possible qu'en présence de matières albuminoïdes les leucocytes soient en état de manifester une motilité amiboïde pour une réaction plus alcaline que dans d'autres liquides. Et en effet, il en est ainsi. Cette influence se montra nettement dans les solutions colloïdales de gomme arabique et de gélatine dans *Na Cl* à 0.9 ‰. Dans les tableaux XVII, XVIII et XIX notamment les leucocytes ont formé de longs pseudopodes même à un degré d'acidité $P_H = 7.8$. Toutefois, les colloïdes ne sont pas les seules substances qui font que les cellules sont capables d'émettre des pseudopodes dans des concentrations situées davantage du côté alcalin; les sels des acides gras examinés aussi exercent à ce point de vue la même influence sur les leucocytes. C'est ainsi que nous voyons que dans les tableaux XIV, XV et XVI les cellules ont formé des pseudopodes relativement grands et même franchement grands pour un $P_H = 7.8$, alors que dans la solution de Ringer ou dans les mélanges à phosphates la formation de prolongements est tout-à-fait minime pour ce degré d'acidité.

EXAMEN COMPARATIF DE CELLULES D'EXSUDAT POLYNUCLÉAIRES ET MONONUCLÉAIRES.

Les leucocytes d'exsudat, d'obtention si aisée, forment un matériel de choix pour comparer entre elles les différentes espèces de cellules présentes dans l'exsudat. La quantité considérable des cellules, remplissant jusqu'à quelques centimètres cubes, contribue dans une large mesure à les faire considérer comme un sujet d'étude particulièrement approprié. Un grand avantage, en outre, c'est, comme je l'ai déjà fait remarquer, qu'on est presque maître d'obtenir à volonté dans l'exsudat essentiellement des cellules polynucléaires ou des cellules mononucléaires.

Si j'insiste encore une fois sur ce fait mis en lumière par les recherches de FERINGA, c'est qu'il ne me paraît pas encore être suffisamment connu. JOLLY ¹⁾, tout au moins, se plaint de la difficulté expérimentale qu'il

¹⁾ JOLLY, loc. cit., p. 327.

y a à produire un exsudat contenant une espèce déterminée de cellules. PAUL SZILLÁRD ¹⁾ aussi exprime cette idée.

Ces cellules migratrices présentent sur celles du sang l'avantage que les cellules mononucléaires aussi peuvent être obtenues en grandes quantités.

Les cellules polynucléaires, qui apparaissent les premières dans l'exsudat, s'acheminent vers un fin rapide. Aussi voyons-nous, comme je l'ai déjà décrit plus haut, qu'elles sont parfois englobées en grand nombre par les mononucléaires. Dans quelques cas les polynucléaires paraissent se perdre moins vite. WIDAL et GOUGEROT ²⁾ rapportent que dans certains exsudats aseptiques, e. a. dans ceux qui résultent d'une pneumonie et ont une certaine tendance naturelle à la guérison, les leucocytes polynucléaires restent inaltérés et ne présentent donc pas de signes de dégénérescence.

Les cellules mononucléaires ont un caractère plus réparatif. Elles absorbent les polynucléaires qui leur servent apparemment de nourriture et sont capables de se transformer en cellules de tissu conjonctif.

Pour ce qui regarde la différence d'aspect extérieur des cellules d'exsudat, je renvoie à ce qui a déjà été dit antérieurement à ce sujet. En dehors de ces différences extérieures, durée d'apparition dans l'exsudat, capacité de résistance ressortant de la disparition plus ou moins grande des cellules, destination, les diverses sortes de leucocytes présentent une grande différence sous le rapport de leurs propriétés fermentatives. Ainsi, nous trouvons un ferment protéolytique principalement dans les leucocytes polynucléaires, aussi bien dans ceux provenant du sang que dans ceux des exsudats. Les lymphocytes fournis par un malade atteint de leucémie lymphatique ne contiennent pas de ferment protéolytique³⁾. Un ferment lipolytique, par contre, se rencontre surtout dans les cellules mononucléaires, tandis que les leucocytes d'exsudat polynucléaires et les leucocytes de la leucémie myéloïque ne contiennent pas ce ferment ou ne le contiennent qu'en toute petite quantité. On a essayé d'employer cette différence de teneur en ferment comme diagnostic clinique. FIESSINGER et MARIE trouvèrent que pour les exsudats séro-fibrineux de la plèvre chez les phthisiques, l'hydrothorax, l'ascite à la

¹⁾ PAUL SZILLÁRD, *Pflüg. Archiv*, **211**, 597.

²⁾ *S. méd. des hôp.*, 27 juillet 1906.

³⁾ FIESSINGER et BROUSSOLLE, *S. méd. des hôpitaux*, 18 février 1921.

suite de cirrhose du foie le pouvoir protéolytique est négatif. Pour la pleurésie purulente non tuberculeuse et la méningite cérébrospinale épidémique, ils trouvèrent un pouvoir protéolytique nettement accusé, tandis que le ferment lipolytique faisait défaut.

Pour ce qui concerne la présence éventuelle d'un ferment diastasique dans les leucocytes, je m'en réfère à ce qui sera dit plus loin au sujet de l'examen de la teneur en glycogène des cellules d'exsudat.

J'ai comparé successivement les propriétés suivantes des différentes espèces de leucocytes d'exsudat :

la motilité amiboïde,
le pouvoir phagocytaire,
la teneur en glycogène,
la consommation d'oxygène et la production d'anhydride carbonique.

LA MOTILITÉ AMIBOÏDE.

Les suspensions contenaient le plus souvent 20 à 30 % de leucocytes mononucléaires. Cependant, je ne parlerai pas, dans les tableaux, des changements de forme de ces cellules. Elles présentent, en effet, des prolongements si petits, qu'il me fut impossible de me faire une idée de la mesure dans laquelle le liquide favorise ou non la formation de pseudopodes chez ces cellules.

Je n'y réussis même pas dans les conditions les plus favorables, lorsque l'exsudat contenait uniquement des cellules mononucléaires.

Les leucocytes d'exsudat polynucléaires, par contre, manifestaient une motilité amiboïde très énergique. Les leucocytes qui servirent à l'expérience suivante, furent fournis par un lapin auquel on avait fait, 17 heures auparavant, une injection de 300 cm³. d'une solution de *NaCl* à 0.9 %. L'exsudat contenait 20 % de cellules mononucléaires. Les cellules furent fixées après un séjour de 20 minutes dans du Ringer à 37° C. Le tableau XXV donne le résultat fourni par les leucocytes polynucléaires.

Nous voyons donc que, tout comme c'est le cas pour le sang de cheval, à un degré d'acidité approprié les cellules d'exsudat polynucléaires forment de longs pseudopodes dans la solution de Ringer. Les cellules mononucléaires, par contre, ne réagissent que très peu vis-à-vis de

TABLEAU XXV.

Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
Ringer + CO_2	8	petits pseudopodes
" + "	7.6	" "
" + "	7.4	longs pseudopodes
" + "	7.2	" "
" + "	6.6	" "
" + "	6.2	" "

changements du milieu; leurs prolongements amiboïdes restent minimes dans toutes les ambiances. Pour illustrer ce point, j'ai fait une microphotographie (n°. 5) d'une autre suspension, où se manifeste d'une manière très frappante la manière différente de se comporter des cellules mono- et polynucléaires, pour ce qui regarde leur motilité amiboïde. La photo fut faite après que les cellules eurent séjourné pendant 20 minutes dans le thermostat à une température de $37^\circ C.$, dans du Ringer à $P_H = 7.2$. Il y avait 20 % de cellules mononucléaires. Les cellules polynucléaires, dont la forme s'est considérablement modifiée, se distinguent nettement des cellules mononucléaires rondes.

Avec des solutions d'acétate et de propionate de soude j'obtins à peu près les mêmes résultats que pour les leucocytes de cheval (voir les tableaux XXVI et XXVII).

TABLEAU XXVI.

Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
Acétate de Na + ac. acétique	8.4	cellules presque rondes
" + "	8	petits pseudopodes
" + "	7.4	pseud. relativ. grands
" + "	7	petits pseudopodes
" + "	6.6	cellules presque rondes
Ringer + CO_2	7.2	longs pseudopodes

L'influence spécifique nuisible de l'acide acétique est de nouveau manifeste, tout comme celle de l'acide propionique dans le tableau XXVII.

TABLEAU XXVII.

Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
Propionate de <i>Na</i>	7.4	longs pseudopodes
" + ac. prop.	7.2	pseud. relativ. grands
" + "	6.8	cellules rondes
" + "	6.4	"
Ringer + CO_2	7.2	longs pseudopodes
<i>Na Cl</i> 0.9 % + <i>Na OH</i>	7.2	" "

Il est frappant de constater que dans la solution de *Na Cl* aussi il s'est formé de longs pseudopodes, alors que les leucocytes de cheval y restaient absolument ronds.

DE HAAAN avait déjà attiré l'attention sur ce fait. Toutefois, le plus souvent les pseudopodes ne sont ni aussi longs, ni aussi nombreux que dans la solution de Ringer (voir tableau suivant) mais la différence n'est pas frappante. Le degré d'acidité a également une signification dans la solution de sel marin.

TABLEAU XXVIII.

Milieu.	P_H	Formation de pseudopodes.
<i>Na Cl</i> 0.9 + <i>Na OH</i>	8	petits pseudopodes
" + "	7.6	pseud. relativ. grands
" + "	7.2	" " "
" + "	6.8	" " "
" + "	6.4	cellules presque rondes
Ringer + CO_2	7.2	longs pseudopodes

Ensuite, j'ai étudié encore la manière de se comporter des leucocytes dans des mélanges à phosphates, dans des dilutions de sérum avec *Na Cl* 0.9 % et dans des solutions de gomme arabique; tout cela donna à peu près le même résultat qu'avec les leucocytes de cheval. Mais comme ces leucocytes d'exsudat forment aussi des pseudopodes dans du *Na Cl* 0.9 %, je laisserai de côté les rapports des expériences.

Il semble bien qu'en général les leucocytes d'exsudat disposent d'une motilité amiboïde plus grande que les leucocytes du sang, de sorte qu'ils peuvent encore former des pseudopodes dans un milieu moins favorable, en l'occurrence dans une solution physiologique de sel marin. Evidem-

ment, on ne peut trancher ce point d'une façon décisive qu'en comparant les leucocytes sanguins et ceux d'exsudat d'un grand nombre d'animaux. Mais là réside précisément la difficulté, que dans l'un des cas les cellules d'exsudat, dans l'autre les cellules sanguines sont difficiles à obtenir.

Néanmoins, diverses indications rendent cette supposition très vraisemblable. JOLLY ¹⁾ examina les leucocytes de l'homme et d'autres mammifères, et aussi de batraciens et de reptiles, dans des mélanges de solutions de *NaCl* à 0.9 ou 0.6 % et de sang de l'animal en question. Il trouva ainsi qu'à une „température convenable” les cellules avaient formé des pseudopodes dans des dilutions au $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{20}$, $\frac{1}{50}$ et même $\frac{1}{100}$.

Dans des dilutions plus fortes les cellules restaient rondes. Il est vrai que JOLLY n'étudia pas les cellules librement en suspension, mais sur un substratum, ce qui a l'inconvénient de l'adhésion déjà signalé plus haut. Cependant, il est bien remarquable que chez des cellules de pus examinées de la même manière il constata une grande activité dans une solution physiologique de sel marin. Il travailla e. a. avec des cellules de pus fournies par un malade atteint de blennorrhée. Même dans l'urine, lorsque celle-ci avait une concentration convenable et n'était pas trop vieille, les cellules de pus provenant d'une cystite ou d'une pyélo-cystite formaient des pseudopodes.

On pourrait expliquer de la manière suivante la propriété des leucocytes d'exsudat du lapin de présenter également des mouvements amiboïdes dans une solution de sel marin: la destruction d'une partie des cellules provoque la mise en liberté de substances, e. a. des matières albuminoïdes, qui créent pour les autres cellules des possibilités d'émission de prolongements protoplasmiques. La destruction lytique d'une partie des cellules était nettement prouvée par le fait que le liquide centrifugé, après son séjour dans le thermostat, contenait relativement beaucoup d'albumine. L'ébullition de la solution, après addition préalable d'acide acétique, déterminait le plus souvent un trouble relativement intense.

¹⁾ JOLLY, loc. cit., p. 248.

PHAGOCYTOSE DES LEUCOCYTES D'EXSUDAT.

Le phénomène de la phagocytose fut observé pour la première fois chez les invertébrés par HAECKEL en 1862, chez les anoures par RECKLINGHAUSEN. En 1865, ce pouvoir des leucocytes fut prouvé par les recherches fondamentales de MAX SCHULZE ¹⁾. Plus tard, METCHNIKOFF ²⁾ trouva que les leucocytes pouvaient également phagocyter des organismes vivants. HAMBURGER ³⁾ étudia comment différents changements physico-chimiques du milieu où se trouvent les leucocytes, peuvent activer ou entraver le processus de la phagocytose. Pour ce qui regarde la relation entre la phagocytose et la motilité amiboïde de la cellule, DE HAAN ⁴⁾ montra que ces deux processus constituant deux propriétés très différentes de la cellule ne doivent pas nécessairement se produire parallèlement. Cependant les circonstances dans lesquelles on examine la phagocytose ont leur importance. Supposons que le leucocyte se trouve sur un substratum et rampe vers un objet qui sera phagocyté. Il va de soi que les influences qui modifient la vitesse de reptation se traduiront dans le degré de la phagocytose.

JOLLY ⁵⁾ écrit e. a.: „Par suite de la mobilité de leur protoplasme nu, les leucocytes sont capables d'incorporer les matières pulvéru-lentes." Deux pages plus loin, il expose comment il se figure le rapport causal entre les deux processus: „La phagocytose est gênée ou favorisée par les diverses influences qui agissent sur les mouvements amiboïdes." N'empêche qu'il ne veut pas expliquer le processus proprement dit de la phagocytose, l'incorporation du corps étranger, en admettant que les leucocytes saisissent le corps étranger par des pseudopodes. Il est possible que cela soit le cas chez les amibes, mais il n'en serait pas ainsi chez les leucocytes. Il cherche plutôt l'explication dans le contact entre les cellules et le corps étranger, contact dans lequel des tensions superficielles jouent un grand rôle.

Aussi la plupart des chercheurs, RHUMBLER ⁶⁾ et LEDINGHAM ⁷⁾ e. a.,

¹⁾ *Archiv f. mikr. Anat.*, I, 1865.

²⁾ *Virch. Archiv*, 1884.

³⁾ loc. cit.

⁴⁾ *Arch. Néerl. de Physiol.*, VI, 3^e livr., 1922.

⁵⁾ loc. cit., p. 261.

⁶⁾ *Ergbn. d. Anat. u. Entwickl. Gesch.*, 8, 591, 1899.

⁷⁾ *Proceedings Royal Society*, 80, 1908.

sont-ils d'avis que la phagocytose peut se produire indépendamment de la motilité amiboïde. Le premier auteur indique deux manières de production de la phagocytose, savoir: 1°. par „Umfließung” (enveloppement) et 2°. par „Einziehung” = „Import” (pénétration). Ce dernier mode de phagocytose n'exige pas que la cellule change de forme.

La dissemblance entre la phagocytose et la motilité amiboïde ressort également des expériences de FENN¹⁾. Celui-ci trouve que pour une réaction acide du milieu, le quartz est plus rapidement phagocyté que le charbon, et que le charbon l'est plus rapidement que le quartz dans un liquide alcalin. Il est peu probable que cela repose sur une différence dans la motilité amiboïde.

D'autre part, il y a des auteurs qui considèrent la phagocytose comme une conséquence de la motilité amiboïde. SCHWIZZER²⁾ e.a. ne parvient pas à s'affranchir complètement de l'idée que la phagocytose se produit par une émission de pseudopodes suivie d'un retrait. Il incline à penser que la formation de pseudopodes chez les leucocytes est en rapport étroit avec la tension superficielle. Toutefois, il n'essaie pas de décider jusqu'à quel point le processus proprement dit de la phagocytose peut se ramener à l'effet de cette tension. Il appelle la phagocytose, l'incorporation de particules nutritives, un processus tellement vital qu'il lui répugne de n'y voir que des variations de tension superficielle, et il dit: „Obwohl auch da ein Einziehen der Pseudopodien, nachdem sie an einem Fremdkörper sich angeheftet haben, die Phagocytose erklären könnte”.

Dans mes expériences sur les leucocytes d'exsudat, l'examen du phénomène de la phagocytose s'imposait tout naturellement. En effet, les cellules d'exsudat mononucléaires avaient absorbé presque toutes, sans exception, de nombreuses cellules polynucléaires. Rien d'étonnant, par conséquent, à ce que j'eusse étudié de plus près cette propriété *in vitro*, en faisant particulièrement attention à la manière de se comporter des différentes espèces de cellules.

On sait d'une manière générale que les grandes cellules mononucléaires possèdent dans le corps des propriétés fortement phagocytaires et absorbent intensément, en vertu de cette propriété, les substances colorantes vitales acides. Le nom collectif de „macrophages” désigne déjà suffisamment cette propriété. Or, mon but était d'examiner si cette pha-

¹⁾ loc. cit., p. 313.

²⁾ loc. cit., p. 307.

gocytose est favorisée in vitro par les mêmes facteurs que celle des leucocytes polynucléaires. Pour ce qui concerne la technique opératoire, je crois pouvoir me contenter de renvoyer à ce qui a déjà été dit à ce sujet dans le compendium de HAMBURGER. ¹⁾

Comme matériel de phagocytose j'ai pris de l'amidon de riz. Au liquide à étudier, j'ai ajouté chaque fois 0,2 cm.³ d'une épaisse suspension de leucocytes et 0,2 cm.³ d'une suspension de farine de riz (100 mgr. d'amidon et 5 cm.³ de *NaCl* à 0.9%). Puis les cellules furent laissées dans l'étuve à 37° pendant $\frac{1}{2}$ heure, et entretemps on les secoua énergiquement plusieurs fois. A la fin elles furent fixées à l'aide de deux gouttes d'acide osmique et puis les grains d'amidon furent colorés par une solution d'iode dans l'iodure de potassium. Pour ce qui regarde les leucocytes polynucléaires des exsudats, leur pouvoir phagocytaire a déjà été étudié avec soin par DE HAAN ²⁾. Voici, en résumé, le résultat de ses recherches.

En premier lieu, le degré d'acidité a une influence extraordinairement grande. La réaction la plus appropriée est une réaction à peu près neutre. Dans ces conditions les leucocytes ne phagocytent que modérément dans une solution de *NaCl*. Ce n'est que dans les cas où les leucocytes n'avaient encore séjourné que pendant quelques heures dans la cavité abdominale que le pourcentage de cellules qui avaient absorbé de l'amidon était relativement élevé (31 à 44,5%). L'addition de *CaCl*₂ fit considérablement augmenter l'intensité du processus. La solution de Ringer n'était pas un milieu plus favorable que la solution de *NaCl* additionnée de calcium. La phagocytose des leucocytes d'exsudat était la plus forte dans un ultrafiltrat, n'importe de quel animal, mais surtout dans la solution de sel marin additionnée de sérum ($\frac{1}{5}$). Pour me rendre exactement compte du pouvoir phagocytaire des cellules mono- et polynucléaires d'exsudat, j'ai d'abord examiné comment ces dernières se comportaient à ce point de vue. J'obtins le même résultat que DE HAAN. Plus est court le séjour des cellules polynucléaires dans la cavité abdominale, plus est intense leur phagocytose dans *NaCl* 0,9%. Ce sont les dilutions de sérum qui me donnèrent l'influence la plus favorable (voir les tableaux XXIX, XXX et XXXI).

¹⁾ H. J. HAMBURGER, loc. cit.

²⁾ J. DE HAAN, Thèse de doctorat, pp. 67 et 68.

TABLEAU XXIX.

Jeune lapin, n'ayant pas encore servi; injection de 250 cm.³ de *NaCl* 0.9%. Au bout de 5 h. enlèvement du liquide hors de la cavité abdominale. L'exsudat contient presque exclusivement des cellules polynucléaires. Durée de la phagocytose 30 min. Temp. 37°C.

Milieu.	P_H	Pourcent. des leucocytes ayant phagocyté de l'amidon.
<i>NaCl</i> 0.9 % + <i>NaOH</i>	7.4	$\frac{75}{303} \times 100 = 25 \%$
mélange à phosphates	7.2	$\frac{81}{314} \times 100 = 25.7 \%$
Ringer + CO_2	7.2	$\frac{141}{214} \times 100 = 65.9 \%$
sérum + <i>NaCl</i> 0.9 % $\frac{1}{5}$	7.4	$\frac{240}{257} \times 100 = 93.4 \%$

TABLEAU XXX.

Même lapin, injection de 250 cm.³ de *NaCl* 0.9 %. Au bout de 3½ h. le liquide est extrait de la cavité abdominale. Presque 100 % de cellules polynucléaires dans l'exsudat. Même température et même durée d'exposition que ci-dessus.

Milieu.	P_H	Pourcent. de leucocytes ayant phagocyté de l'amidon.
<i>NaCl</i> 0.9 % + <i>NaOH</i>	7.2	$\frac{69}{259} \times 100 = 22.8 \%$
Ringer + CO_2	7.2	$\frac{110}{226} \times 100 = 49.1 \%$
ultrafiltr. sérum bœuf + CO_2	7.2	$\frac{113}{244} \times 100 = 46.3 \%$
sérum + <i>NaCl</i> 0.9 % $\frac{1}{5}$	7.4	$\frac{149}{237} \times 100 = 62.9 \%$

TABLEAU XXXI.

Tous les leucocytes (100 % de polynucléaires) ont absorbé de l'amidon dans la dilution de sérum. L'éprouvette contenant la solution de *NaCl* ne donna pas de résultat. Durée d'exposition ½ h.; température 37° C.

Milieu.	P_H	Pourcent. des leucocytes ayant phagocyté de l'amidon.
Ringer + CO_2	7.2	$\frac{53}{110} \times 100 = 46.4 \%$
sérum + <i>NaCl</i> 0.9 % $\frac{1}{5}$	7.4	$\frac{223}{223} \times 100 = 100 \%$

Pour ce qui concerne maintenant les cellules d'exsudat mononucléaires, là aussi la phagocytose la plus intense se produit dans le mélange de sérum et sel marin. Le pouvoir phagocytaire de ces cellules n'est certainement pas inférieur à celui des cellules polynucléaires (voir tableau XXXII)

TABLEAU XXXII.

Suspension de leucocytes ne contenant pratiquement que des cellules mononucléaires, obtenues en drainant à l'aide d'une solution physiologique de sel marin la cavité abdominale d'un lapin, à qui on avait fait 10 jours auparavant une injection de 45 cm.³ de paraffine liquide stérile.

Milieu.	P_H	Pourcent. de leucocytes ayant phagocyté de l'amidon.	Formation de pseudopodes.
<i>Na Cl</i> 0.9 % + <i>Na OH</i>	7.4	$\frac{150}{511} \times 100 = 29.3 \%$	cellules rondes
Ringer + CO_2	7.2	$\frac{73}{187} \times 100 = 39 \%$	"
Sérum + <i>Na Cl</i> 0.9 % $\frac{1}{5}$	7.4	$\frac{312}{312} \times 100 = 100 \%$	"

Dans le tableau XXXIII les cellules provenant d'une suspension ne contenant que des cellules mononucléaires ont phagocyté un peu moins intensément. Cependant, ici aussi on peut constater une progression, lorsqu'on compare entre eux les résultats dans la solution de sel marin, la solution de Ringer et dans la dilution de sérum.

TABLEAU XXXIII.

Milieu.	P_H	Pourcent. de leucocytes ayant phagocyté de l'amidon.	Formation de pseudopodes.
<i>Na Cl</i> 0.9 % + <i>Na OH</i>	7.4	$\frac{9}{152} \times 100 = 5.8 \%$	cellules rondes
Ringer + CO_2	7.2	$\frac{56}{433} \times 100 = 12.9 \%$	"
Sérum + <i>Na Cl</i> 0.9 % $\frac{1}{5}$	7.4	$\frac{223}{291} \times 100 = 76.3 \%$	"

Pour pouvoir comparer mieux encore les pouvoirs phagocytaires des deux espèces de leucocytes d'exsudat, j'ai examiné des suspensions contenant à la fois aussi bien l'une que l'autre espèce de cellules. Nous avons affaire alors à des cellules qui se trouvent le mieux possible dans

des conditions identiques. Les tableaux suivants font connaître le résultat de ces expériences.

TABLEAU XXXIV.

Suspension obtenue en drainant la cavité abdominale dans laquelle on avait fait 24 h. auparavant une injection de 300 cm³. d'une solution de sel marin. L'exsudat contient 60 % de cellules mononucléaires. Durée d'exposition 30 minutes. Temp. 37° C.

Milieu.	P_H	Pourcent. de <i>mononucl.</i> ayant phagocyté.	Pourcent. de <i>polynucl.</i> ayant phagocyté.
<i>Na Cl</i> 0.9 % + <i>Na OH</i>	7.2	$\frac{194}{272} \times 100 = 71.3 \%$	$\frac{52}{252} \times 100 = 20.6 \%$
Ringer + <i>CO</i> ₂	7.2	$\frac{171}{206} \times 100 = 83 \%$	$\frac{38}{151} \times 100 = 25.2 \%$
Ultrafiltr. sérum de boeuf + <i>CO</i> ₂	7.2	$\frac{162}{224} \times 100 = 71 \%$	$\frac{54}{154} \times 100 = 35 \%$
Sérum + <i>Na Cl</i> 0.9 % ¹ / ₅	7.4	$\frac{162}{224} \times 100 =$	81.1 % ¹)

Le tableau suivant donne le même résultat:

TABLEAU XXXV.

Injection chez un lapin de 45 cm³. de paraffine liquide stérile. 7 jours plus tard, la cavité péritonéale est lavée en injectant 250 cm³. de *Na Cl* 0.9 % que l'on aspire aussitôt après. La suspension contient 79 % de cellules mononucléaires. Séjour dans l'étuve pendant 30 minutes à 37° C.

Milieu.	P_H	Pourcent. de <i>mononucl.</i> ayant phagocyté.	Pourcent. de <i>polynucl.</i> ayant phagocyté.
<i>Na Cl</i> 0.9 % + <i>Na OH</i>	7.4	$\frac{171}{677} \times 100 = 25.3 \%$	$\frac{23}{209} \times 100 = 11 \%$
Ringer + <i>CO</i> ₂	7.4	$\frac{284}{378} \times 100 = 75.1 \%$	$\frac{10}{72} \times 100 = 14 \%$
Sérum + <i>Na Cl</i> 0.9 % ¹ / ₅	7.4	$\frac{306}{374} \times 100 =$	81.8 % ¹)

¹) La numération différentielle est rendue impossible dans ce cas, par la forte accumulation des grains d'amidon dans les cellules.

Dans ces derniers tableaux la phagocytose des cellules mononucléaires a été plus forte que celle des cellules polynucléaires. On n'a trouvé aucune fois la valeur de 71.3 % donnée au tableau XXXIV pour une solution de sel marin. Pour ce qui regarde les leucocytes mononucléaires, ce sont surtout les petites formes qui n'ont pas absorbé de l'amidon. Le faible pouvoir phagocytaire de ces cellules est d'ailleurs bien connu. Une suspension de petits lymphocytes obtenue en grattant à l'aide d'un couteau la surface de section d'une glande lymphatique de bœuf ne présente pas, ou presque pas de phagocytose.

Dans le tableau XXXVI les leucocytes polynucléaires ne furent pas comptés. Mais il était facile de constater que la phagocytose de ces cellules avait été très faible dans une solution de *NaCl*.

TABLEAU XXXVI.

Lapin ayant déjà servi quelques fois; injection dans la cavité abdominale de 250 cm.³ de *NaCl* 0.9% + 10 cm.³ de lait (le tout stérilisé). Au bout de deux fois 24 h. drainage de la cavité abdominale. La suspension contient 70% de mononucléaires. $\frac{1}{2}$ h. d'étuve à 37° C.

Milieu.	P_H	Pourcent. de mononucléaires ayant phagocyté.
<i>NaCl</i> 0.9 % + <i>NaOH</i>	7.2	$\frac{61}{202} \times 100 = 30.2 \%$
Ringer + CO_2	7.2	$\frac{133}{202} \times 100 = 65.8 \%$
Sérum + <i>NaCl</i> 0.9 % $\frac{1}{5}$	7.4	$\frac{117}{170} \times 100 = 68.8 \%$

Si maintenant nous résumons encore une fois ce que les expériences ci-dessus nous ont appris au sujet du pouvoir phagocytaire des leucocytes d'exsudat, nous constatons que les grandes cellules à noyaux ronds ne le cèdent en rien, pour ce qui est de ce pouvoir, à celles à noyaux lobés. Leur pouvoir est même manifestement supérieur à celui de ces dernières. Car si nous faisons l'examen des tableaux nous trouvons que, exception faite pour le tableau XXXIII où les cellules n'ont absorbé des grains d'amidon que dans une faible mesure, les cellules mononucléaires ont phagocyté dans la solution de sel marin tout aussi intensément qu'on a pu le constater pour les polynucléaires dans ce milieu, dans une seule circonstance, il est vrai, notamment lorsque l'exsudat n'était encore âgé que de quelques heures.

Donc les polynucléaires, qui périssent rapidement, phénomène qui se traduit par toutes espèces de phénomènes de dégénérescence, perdent en grande partie leur pouvoir phagocytaire par ce changement. Tel n'est pas le cas pour les cellules mononucléaires. Ces cellules, douées d'un pouvoir de résistance supérieur et dont la fonction est d'enlever les restes de l'exsudat, conservent à un haut degré la propriété d'absorber des objets environnants. Elles déploient ce pouvoir aussi bien *in vivo* (phagocytose de leucocytes polynucléaires) qu'*in vitro* (absorption d'amidon de riz). Le milieu le plus favorable à ce processus est celui contenant du sérum. Cependant avec ces cellules mononucléaires, la phagocytose dite spontanée se manifeste nettement en l'absence de constituants du sérum, pour ce qui concerne la phagocytose de grains d'amidon.

Si maintenant nous examinons de plus près quel est le rapport qui existe entre la phagocytose présentée par les cellules d'exsudat mononucléaires et leur motilité amiboïde, nous voyons ici aussi qu'il n'y a pas du tout de parallélisme entre les deux processus. Dans toutes les solutions où les leucocytes polynucléaires avaient formé de longs pseudopodes, les cellules mononucléaires étaient restées presque rondes; néanmoins elles présentent un développement maximum du pouvoir phagocytaire. Il en ressort donc bien clairement que le pouvoir d'émission de prolongements protoplasmiques n'est pas une condition absolument indispensable à la phagocytose. On rapporte même que des leucocytes morts sont encore capables d'absorber des corps étrangers dans leur protoplasme (OUWEELEN ¹⁾, FRIEDEMANN et SCHÖNFELD ²⁾). Ces derniers auteurs écrivent e.a.: „Offenbar handelt es sich bei der Phagocytose um ein von der Lebenstätigkeit der Leukozyten weit weniger abhängiges physikalisch-chemisches Phänomen als bei der Wanderung der weissen Blutkörperchen. Ja, es scheint uns durchaus nicht ausgeschlossen, dass auch tote Leukozyten noch phagocytieren können.”

Ces auteurs n'ont donc pas non plus en vue la phagocytose par émission de pseudopodes.

DE HAAN ³⁾ aussi admet que des cellules à vitalité très douteuse sont capables de phagocyter. Il fit agir du chloroforme à une concentration de $\frac{1}{500}$ sur des leucocytes de cheval. Il porta ensuite les cellules dans

¹⁾ Thèse de doctorat, Groningue, 1915.

²⁾ loc. cit.

³⁾ Thèse de doctorat, Groningue, 1920.

des dilutions de sérum, où elles phagocytèrent au maximum, comme des cellules tout-à-fait indemnes. Après l'action du chloroforme les noyaux se colorèrent au rouge neutre, ce qui est une preuve de la mort des cellules.

Dans cet état la phagocytose présente donc beaucoup d'analogie avec une expérience de RHUMBLER¹⁾, qui fit absorber par une goutte de chloroforme un petit filament de verre, recouvert de gomme laque.

Il est évident que la mort du protoplasme n'est pas une circonstance idéale pour la manifestation du pouvoir phagocytaire de la cellule. Cependant, elle illustre bien la grande indépendance existant entre cette propriété des cellules et leur motilité amiboïde. On ne saurait donc utiliser la phagocytose comme critérium pour décider si les cellules se trouvent ou non dans des circonstances plus ou moins favorables.

LA TENUEUR EN GLYCOGÈNE DES CELLULES D'EXSUDAT.

Comme je l'ai déjà décrit plus haut, les cellules d'exsudat mononucléaires provenant de la cavité péritonéale ne présentent pas toujours le même aspect extérieur à la suite de leur coloration par la solution de Lugol. Si l'occasion de phagocyter des cellules polynucléaires ne leur a pas été bien fournie, leur protoplasme est homogène et légèrement jaunâtre. On ne voit alors aucune trace de granulations dans les cellules. Par contre, si l'exsudat est un peu plus âgé, les grandes cellules sont parfois bourrées de petits globules, colorés en brun-noirâtre par l'iode. Ce sont donc là les polynucléaires absorbés. Si l'exsudat est encore plus âgé, on constate que les petits globules ont disparu. Mais alors le protoplasme des grandes cellules d'exsudat n'est plus homogène, il est fortement granulé. Ces granulations se colorent intensément en brun par l'iode. Dans la préparation colorée suivant la méthode de Giemsa, les granulations prennent une teinte violette.

Le réaction positive à l'iode pour les leucocytes polynucléaires repose, comme on sait, sur la présence de glycogène dans les cellules.²⁾ Mais toute réaction positive à l'iode n'est pas une preuve certaine que la

¹⁾ *Arch. f. Entwicklungsmechanik*, **7**, 1898.

²⁾ J. DE HAAN, *Biochem. Zeitschr.*, **128**, 1922.

cellule contient du glycogène. Des érythrocytes aussi se colorent intensément en brun lorsqu'on les traite suivant une méthode déterminée, notamment lorsqu'on fait agir des vapeurs d'iode sur une préparation par étalement encore humide. Et cependant ces cellules ne renferment pas de glycogène, ou, si elles en contiennent, c'est tout au plus en quantités très minimes, car, bien que les données des différents auteurs à ce sujet soient assez peu concordantes, les quantités trouvées dans un litre de sang sont excessivement faibles, quelques milligrammes seulement. ¹⁾

Mais d'autre part une réaction négative n'indique pas davantage l'absence de cet hydrate de carbone. Ainsi KAN KATO ²⁾ trouva quelques pourcents de glycogène dans des ovaires de grenouilles, malgré le résultat négatif de toutes les réactions microchimiques.

Il était donc tout indiqué d'examiner par voie chimique si les leucocytes d'exsudat mononucléaires, qui présentent cependant nettement l'iodophilie, contiennent ou non du glycogène. Pour isoler l'hydrate de carbone de la cellule, j'ai utilisé la méthode de DE HAAN ³⁾. C'est le procédé original de PFLÜGER ⁴⁾, modifié par cet auteur pour en faire une microméthode. Après l'hydrolyse du glycogène, produite par l'action d'acide chlorhydrique dilué pendant 2 h. à une température de 100°C., le glucose formé fut déterminé suivant la microméthode de BANG ⁵⁾.

TABLEAU XXXVII.

Quantité de leucocytes.	Quantité de polynucléaires.	Quant. de glycogène.
0.125 cm. ³	20 %	0.15 %
0.2 "	0 "	0 "
0.03 "	17 "	0.535 "
0.15 "	40 "	0.264 "
0.2 "	30 "	0.17 "
0.02 "	0 "	0 "
0.01 "	100 "	2 "
0.23 "	100 "	1.2 "

Dans le tableau XXXVII on trouve dans la première colonne la quantité de leucocytes employée pour l'expérience, exprimée en cm.³

¹⁾ KAUFMANN, *C. R. Soc. d. Biol.*, **47**, 665.

²⁾ *Pflüger's Arch.*, **127**, 1909.

³⁾ *Biochem. Zeitschr.*, **128**, 130—132, 1922.

⁴⁾ *Pflüg. Arch.*, **129**, p. 362.

⁵⁾ *Biochem. Zeitschr.*, **87** et **92**.

Cette quantité fut déterminée à l'aide d'hématocrytes. La seconde colonne renseigne le pourcentage de polynucléaires se trouvant parmi les cellules d'exsudat employées. La troisième colonne enfin apprend la quantité pour cent de glycogène contenue dans les cellules.

Si dans ce tableau nous prenons les deux cas où nous n'avons affaire qu'à des leucocytes polynucléaires, nous trouvons pour la teneur en glycogène des valeurs qui concordent parfaitement avec celles données par DE HAAK. Si nous n'avons affaire qu'à des mononucléaires, nous ne trouvons pas de glycogène. Dans les cas restants, où nous avons affaire à un petit pourcentage de polynucléaires, nous trouvons une très faible quantité de glycogène. Si nous supposons que ce glycogène est uniquement fourni par les polynucléaires, en tenant compte de ce que le volume des grandes cellules mononucléaires est à peu près $2\frac{1}{2}$ fois plus grand que celui des polynucléaires, nous obtenons des valeurs qui tombent exactement dans les limites entre lesquelles oscillent les quantités de glycogène trouvées pour des suspensions de leucocytes contenant exclusivement des cellules polynucléaires. Nous pouvons donc bien admettre que les cellules d'exsudat mononucléaires ne contiennent pas de glycogène, et dans le fait qu'elles fournissent cependant une réaction positive avec l'iode, nous trouvons une preuve de plus que la réaction microchimique du glycogène avec l'iode est tout à fait insuffisante pour décider si une cellule contient du glycogène, ou non. On voit, en outre, que l'intense phagocytose des éléments polynucléaires par les cellules mononucléaires ne conduit pas à une accumulation de glycogène. Il est possible que ce glycogène avait déjà disparu au moment de la phagocytose; mais il n'est pas moins vraisemblable que dans la digestion intracellulaire sous l'action de ferments le glycogène se transforme rapidement dans les cellules mononucléaires. Il se peut également que les cellules polynucléaires contiennent un ferment diastatique, ferment qui serait mis en liberté lors de la destruction de la cellule et pourrait exercer son action.

Pour me rendre compte de la teneur en glycogène des petites cellules mononucléaires, des lymphocytes, je préparai à différentes reprises une suspension de ces cellules en grattant à l'aide d'un couteau un peu de tissu de la surface de section d'une glande lymphatique de bœuf.

J'ai examiné ensuite de petits fragments de glande lymphatique pesant 0,25 gr. Je ne pus en aucun cas décèler la moindre trace de glycogène. Je n'oserais trancher la question de savoir jusqu'à quel point tout ceci

est en rapport avec la faible motilité amiboïde des cellules mononucléaires. Mais on sait que les muscles striés et aussi les fibres musculaires cardiaques, qui doivent exécuter des mouvements énergiques, sont très riches en glycogène.

CONSOMMATION D'OXYGÈNE DES LEUCOCYTES. FORMATION AÉROBIE ET ANAÉROBIE D'ACIDE LACTIQUE.

Il y avait diverses raisons de s'attendre à ce que les leucocytes d'exsudat mononucléaires et polynucléaires présentent des différences au sujet de leur consommation en oxygène. En effet, les expériences avaient montré qu'il existe, à divers points de vue, une dissemblance frappante entre ces espèces de cellules, par exemple des différences dans les granulations, dans la teneur en glycogène et dans la motilité amiboïde.

L'état dans lequel se trouvent ces deux espèces de cellules, les mononucléaires en pleine vitalité, présentant même des karyokinèses, les polynucléaires dans tous les stades de dégénérescence, rendait également vraisemblable que dans leur consommation d'oxygène elles se comporteraient différemment. On sait d'ailleurs — fait généralement reconnu — que les cellules polynucléaires présentent une réaction d'oxydase positive, les cellules mononucléaires, par contre, une réaction généralement négative. Prévoyant la possibilité de processus d'oxydation différents dans ces cellules, j'ai appliqué, à diverses reprises, la réaction de l'oxydase à l'aide d'*z*-naphтол et de diméthylphénylène diamine, bien qu'une réaction d'oxydase positive soit encore tout autre chose qu'une grande consommation en oxygène.

La réaction était, en général, négative chez les leucocytes d'exsudat mononucléaires, fortement positive chez les polynucléaires. De temps en temps, cependant, elle était positive chez les mononucléaires aussi, probablement à la suite de la phagocytose de leucocytes polynucléaires. Nous trouvons alors des accumulations de petites granulations bleues, ou s'opère donc devant nos yeux la synthèse du bleu d'indophénol, au milieu du protoplasme des grands phagocytes, resté incolore.

Si nous essayons d'établir une relation entre les disparités chimiques et physiologiques, nous remarquons en premier lieu la différence en teneur en glycogène. Est-il possible que celle-ci puisse expliquer par ex. la différence dans les manifestations motrices des cellules? Cette idée

se présente tout naturellement à l'esprit: en effet, les hydrates de carbone fonctionnent en général comme sources d'énergie, et tout particulièrement dans le travail musculaire. DE HAAN ¹⁾ déjà trouva que la teneur en glycogène des leucocytes polynucléaires diminue dans différents milieux. Il est donc certainement logique de chercher une relation entre cette diminution de glycogène dans les cellules et leurs fonctions motrices.

Bien que les leucocytes polynucléaires soient parfois entassés en grand nombre dans les cellules mononucléaires, il n'en résulte pas une accumulation de glycogène dans ces cellules. Tout indique donc que chez les deux espèces de cellules d'exsudat les échanges de substances s'effectuent dans des directions différentes.

On sait que les leucocytes mononucléaires peuvent faire l'office d'emmagasineurs de graisses; il semble donc qu'il s'opère chez eux plus de processus d'assimilation, chez les leucocytes polynucléaires, au contraire, plus de processus de désassimilation.

Il est tout naturel d'essayer de contrôler cette supposition par la consommation d'oxygène et les processus d'échanges de matière qu'y sont liés, par ex. la formation d'acide lactique. Il me semblait aussi intéressant d'examiner si les cellules peuvent encore former de l'acide lactique en l'absence d'oxygène. Cela pourrait être une source d'énergie dans des milieux pauvres en oxygène, comme c'est le cas, par exemple, pour les exsudats dans la cavité abdominale.

Des expériences de DE HAAN ²⁾ sur la consommation d'oxygène par des leucocytes d'exsudat, prouvèrent qu'il se produit, déjà au bout de quelques heures, une forte augmentation de la tension de l'anhydride carbonique contenu dans le milieu. Cela ne pouvait pas s'expliquer par la formation de CO_2 dans la respiration. Aussi, DE HAAN supposa déjà qu'un acide en voie de formation, probablement de l'acide lactique, mettait en liberté de l'anhydride carbonique du bicarbonate présent. Cette forte production d'anhydride carbonique, appelé par WARBURG „anhydride carbonique supplémentaire” en opposition avec l'„anhydride carbonique respiratoire”, est vraiment fort remarquable. WARBURG trouva, en effet, que la plupart des tissus normaux, la rétine exceptée, ne forment que très peu, même pas d'anhydride carbonique supplémen-

¹⁾ Thèse de doctorat, Groningue, 1920.

²⁾ *Arch. Néerl. de Physiol.*, IX 2^e liv., p. 274, 1924.

taire. Du tissu de carcinome de toutes espèces d'origines forment, bien au contraire, de grandes quantités d'anhydride carbonique supplémentaire; en d'autres termes, les cellules cancéreuses transforment tant de glucose en acide lactique que ce processus entre en ligne de compte comme une importante source d'énergie ¹⁾.

Il valait donc bien la peine d'étudier comment la glycolyse des leucocytes s'effectue dans des liquides en présence ou en l'absence d'oxygène. Ces cellules aussi décomposent-elles assez de glucose pour que la quantité d'énergie qui est ainsi mise en liberté soit comparable à celle fournie par les processus de combustion dans la cellule? ²⁾

Pour déterminer la consommation d'oxygène, on peut employer deux méthodes, qui diffèrent en principe l'une de l'autre. On peut en premier lieu étudier la respiration des cellules dans des liquides stagnants, en second lieu, dans des liquides circulants qui baignent les leucocytes. La condition sine qua non d'application de cette dernière méthode est évidemment que le matériel cellulaire ne puisse être entraîné par le courant liquide, ce que l'on obtient le plus facilement en retenant les leucocytes par la formation d'un coagulat.

Il est clair que ce coagulat doit être suffisamment peu dense pour que toutes les cellules puissent largement abandonner leurs produits de désassimilation. Dans mes expériences, les coagulats étaient tous excessivement fins et restaient donc bien en dessous de la limite de l'épaisseur trouvée par WARBURG ³⁾ pour ses néoplasmes.

J'ai employé la méthode du tonomètre. Les suspensions de leucocytes étaient introduites dans des tonomètres d'environ 10 cm³ de capacité. Ces tonomètres consistent en un tube de verre cylindrique, à l'une des extrémités duquel on attache un tube en caoutchouc durci de 4 cm. de longueur environ. Une tige de verre, glissant dans ce tube en caoutchouc, joue le rôle de piston. L'autre extrémité du cylindre de verre est étirée

¹⁾ OTTO WARBURG, *Klin. Wochenschr.*, **3**, n°. 24.

²⁾ A la suite de circonstances indépendantes de ma volonté, je n'ai pas eu l'occasion de faire un examen systématique de cette question, le temps m'ayant fait défaut. Ce qui suit n'est donc rien de plus que l'indication de la ligne générale qui me paraît devoir être suivie dans l'examen de la consommation d'oxygène chez les leucocytes. Vu le peu de temps dont je disposais, je n'ai pas pu suivre la méthode qui me paraissait devoir donner, en définitive, le meilleur résultat.

³⁾ OTTO WARBURG, *Biochem. Zeitschr.*, **142**.

en capillaire. Ce capillaire forme un angle obtus avec l'axe longitudinal du cylindre. Après avoir complètement rempli le tonomètre avec la suspension de leucocytes et avec le liquide dans lequel on veut étudier la respiration, on aspire, en retirant légèrement le piston de verre, une bulle gazeuse de volume déterminé. La tension initiale des gaz du liquide à employer est déterminée au préalable dans un tonomètre de contrôle, sans leucocytes. A des intervalles de temps réguliers, on examine à l'aide de l'appareil de microanalyse des gaz de Krogh, la teneur en oxygène ou en anhydride carbonique de la bulle gazeuse.

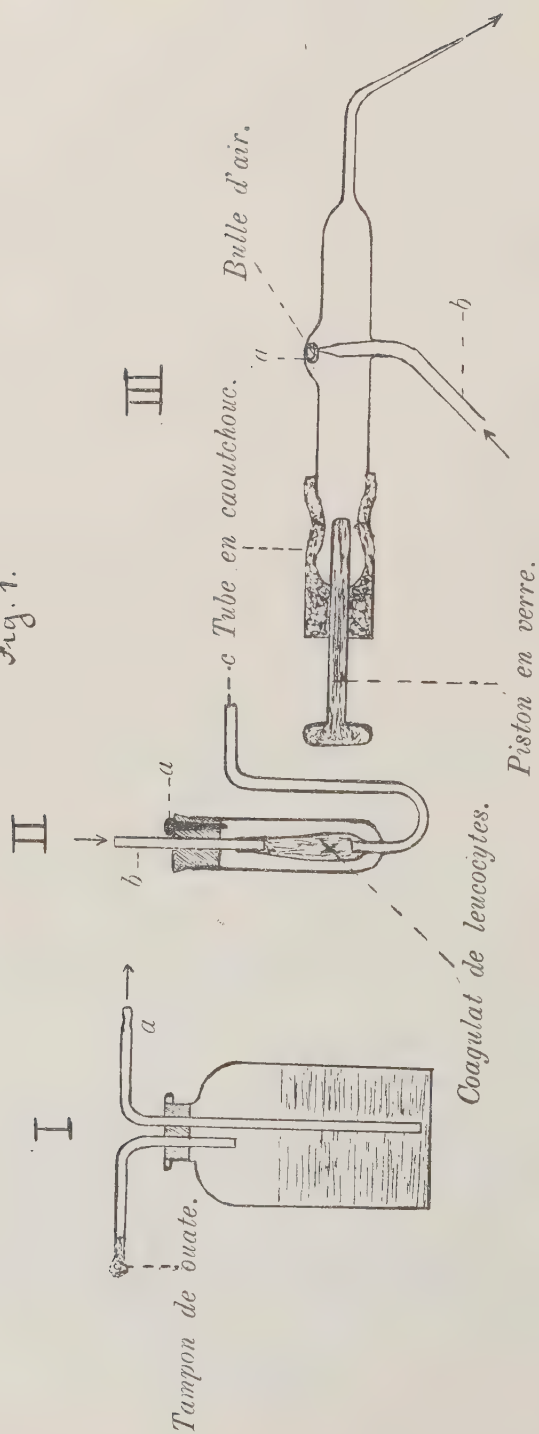
Avant d'employer cette méthode, j'ai essayé d'utiliser la méthode théoriquement la meilleure, à savoir celle des courants liquides. Pour faire de cette manière l'examen de la consommation d'oxygène, j'ai employé le même dispositif expérimental que DE HAAN ¹⁾ pour ses cultures de tissus in vitro. La figure ci-jointe en donne un aperçu.

Dans cette figure, I est la bouteille qui sert de réservoir au liquide de perfusion stérile. Le tuyau *a* est relié au tuyau *b* de II à l'aide d'un petit tube en caoutchouc. Dans la figure II représente le vase contenant le coagulat de leucocytes. Ce vase est un petit tube en verre d'environ 18 cm³ de capacité au fond duquel est soudé un tuyau abducteur *c*, courbé en forme de S. Un bouchon en caoutchouc, percé de deux ouvertures, ferme le tube à sa partie supérieure. L'un des trous du bouchon laisse passer le petit tuyau *b*, l'autre un petit bouchon de verre *a*. L'une des extrémités de *b* est rodée, ce qui favorise la fixation du coagulat de leucocytes. Il en est de même de la partie du tube *c* qui dépasse dans le vase. De *c* un tube en caoutchouc va vers le tube *b* du tonomètre, représenté en III. Ce tonomètre a une capacité de 3 cm.³. En *a* on a soufflé dans la paroi une petite coupole. Nous remplissons le tonomètre d'eau saturée d'air et aspirons une bulle gazeuse, qui vient s'arrêter dans la coupole *a*. En face de la coupole est soudé le tuyau *b* par lequel coule le liquide qui a baigné les leucocytes dans II. Le courant circule avec une lenteur telle que le contenu du tonomètre est renouvelé en une heure par exemple. On peut régler la vitesse du courant en pinçant plus ou moins fort le tube de caoutchouc afférent.

Voici comment se fait l'expérience. A l'aide d'un trocart nous introduisons dans la cavité abdominale du lapin qui doit fournir les leuco-

¹⁾ *Nederl. Tijdschr. v. Geneesk.*, 68, I, n°. 19, 1924.

Fig. 1.



cytes, le même liquide qui va servir à la perfusion, par ex. du Ringer contenant 0.1 % de glucose.

Après avoir massé une ou deux fois l'abdomen nous laissons couler à travers le tuyau *c* dans le vase marqué II le liquide avec les leucocytes contenu dans le trocart, après avoir enlevé au préalable le bouchon *a*. Lorsque II est rempli, on remet *a* en place et on ferme *c*. Puis on laisse reposer les leucocytes pendant quelque temps à une température de 37°. C., jusqu'à ce que le coagulat se soit formé, ce qui demande à peu près un quart d'heure. Si alors on tourne rapidement le tuyau quelques fois autour de son axe longitudinal, le coagulat se détache de la paroi et se contracte en forme tubulaire. C'est là le moment où nous laissons s'écouler le liquide du réservoir par le tube *b* du vase II. Après avoir laissé couler le liquide à travers le coagulat pendant 10 minutes environ, nous relions le tonomètre. Avant de procéder à l'analyse de la bulle gazeuse, on veille à ce que le contenu du tonomètre ait, au préalable, été renouvelé deux ou trois fois par le liquide de perfusion. On peut alors admettre que le liquide du tonomètre a la même composition que celui du vase II.

On place tout le système dans l'étuve à 37° C. Dans toutes ces opérations on observe les règles de l'asepsie.

Si nous réglons maintenant la vitesse de perfusion de façon à ce qu'il dégoutte du capillaire du tonomètre à peu près 3 cm.³ de liquide par heure, le changement en teneur en oxygène que le liquide a subi est suffisant pour établir avec quelque précision la consommation d'oxygène. Je donne ici comme un exemple une lecture de l'appareil pour micro-analyse des gaz, après que le coagulat de leucocytes, composé de 100 % de cellules mononucléaires, eut été perfusé pendant une heure :

	Temp.
longueur initiale de la colonne gazeuse :	123 ³ / ₄ ... 18° C.
„ de la col. gaz. après enlèv. de CO ₂ :	122 18 ¹ / ₄ ° C.
„ „ „ „ „ „ „ „ O ₂ :	107 18 ¹ / ₄ ° C.

Il y a donc dans le mélange gazeux que nous analysons 123³/₄—107 = 16³/₄ ou bien $\frac{100}{123\frac{3}{4}} \times 16\frac{3}{4} = 13.5\%$ d'oxygène. Le liquide de perfusion était saturé d'air et contenait donc 20 % d'oxygène, ainsi que cela fut déterminé au tonomètre avant et après l'expérience. En une heure de temps cette quantité est donc tombée à 13.5⁰/₁₀₀. La quantité

d'oxygène consommée par les cellules est donc suffisante pour pouvoir être mesurée.

Bien que cette méthode par courant liquide me parût la plus appropriée, je n'ai pas réussi à établir des comparaisons entre les leucocytes mononucléaires et polynucléaires, pour ce qui concerne leur consommation en oxygène. Le plus souvent les suspensions qui ne contenaient que des cellules polynucléaires ne coagulaient pas suffisamment. On pourrait peut-être obvier à cet inconvénient en ajoutant du plasma ou de la gélatine.

J'ai réussi une seule fois à coaguler une suspension à 95% de leucocytes polynucléaires. J'en ai déterminé, par la méthode de perfusion, la consommation de glucose. J'ai opéré de la même manière, afin de pouvoir faire la comparaison, avec une suspension de 100% de leucocytes mononucléaires. Dans les deux cas la solution de Ringer perfusant le coagulat contenait 0,1% de glucose. En y faisant passer de l'anhydride carbonique j'ai fait en sorte que la solution eût un $P_H = 7.4$. Pour éviter un dégagement éventuel d'anhydride carbonique j'étendis une petite couche de paraffine liquide à la surface de la solution dans le réservoir.

Les tableaux XXXVIII et XXXIX donnent le résultat de ces expériences. La première colonne renseigne le temps pendant lequel le nombre de cm^3 donné dans la seconde colonne traversait le coagulat. La troisième colonne fait connaître, en milligrammes, la quantité de glucose contenue dans la masse de liquide employée.

TABLEAU XXXVIII.

Coagulat de leucocytes de 0.09 cm^3 contenant 95% de polynucléaires.

Durée de perfusion.	Quantité de liquide.	Quant. de glucose.
1 h.	2.5 cm^3	2.5 mgr.
2 h.	5.3 "	4.24 "
1 $\frac{1}{2}$ h.	4 "	2 "
1 $\frac{1}{2}$ h.	4 "	3.2 "
Total 6 heures.	Total 15.8 cm^3	Total 11.94 mgr.

En 6 heures, la consommation de glucose fut donc $15.8 - 11.94 = 3.86$ mgr., c. à d. par heure et par cm^3 de leucocytes $\frac{1}{0.09} \setminus \frac{1}{6} \setminus 3.86 = 7,15$ mgr. de glucose.

On trouve dans le tableau XXXIX la consommation de glucose des leucocytes mononucléaires.

TABLEAU XXXIX.

Coagulat de leucocytes de 0.04 cm³ contenant 100 % de mononucléaires.

Durée de perfusion.	Quantité de liquide.	Quant. de glucose.
1 heure	2.7 cm. ³	2.7 "
1 ¹ / ₂ "	2.8 "	0.56 "
1 ¹ / ₄ "	2.5 "	2.5 "
1 ¹ / ₄ "	2.5 "	2.25 "
1 ¹ / ₂ "	3 "	2.4 "
Total 6 ¹ / ₂ heures	Total 13.5 cm. ³	Total 10.41 mgr.

En 6¹/₂ heures, la consommation de glucose fut donc 13,5 — 10,41 = 3.09 mgr., c. à d. par heure et par cm³ de leucocytes $\frac{1}{0.04} \times \frac{1}{6.5} \times 3.09 = 11.89$ mgr. de glucose.

Nous voyons donc que, dans des temps égaux, les cellules mononucléaires invertissent un peu plus de glucose que les polynucléaires. Nous montrerons tantôt que cette transformation de glucose plus intense est accompagnée d'une plus forte production d'anhydride carbonique et d'une plus grande consommation d'oxygène.

Bien que la méthode tonométrique présente de nombreux défauts, cette méthode me parut jusqu' à présent la plus convenable pour l'établissement d'une comparaison entre les deux espèces de cellules d'exsudat. Voici les résultats de ces expériences.

La température à laquelle se firent les lectures de l'appareil pour microanalyse des gaz oscillait la plupart du temps autour de 18° C., de sorte qu'il n'était pas nécessaire d'apporter des corrections pour les différences de température.

On lava les leucocytes deux fois avec le liquide qui servit plus tard à remplir les tonomètres. Ce lavage est recommandable, parce que des substances oxydables pourraient passer du sang dans l'exsudat. BUYTENDIJK ¹⁾ constata notamment au cours de ses recherches qu'il se produit dans le sérum sanguin d'animaux à sang chaud un phénomène chimique de catalyse par oxydation.

J'ai utilisé deux tonomètres, indiqués dans les tableaux par I et II

¹⁾ F. J. J. BUYTENDIJK, *Nederl. Tijdschr. v. Geneesk.*, 1916, I, n° 10.

et ayant resp. une contenance de 10 cm^3 et 9.5 cm^3 . Dans le tonomètre I on aspira une bulle gazeuse de 116 mm^3 , dans le tonomètre II une bulle gazeuse de 117 mm^3 . On veilla à ce que les opérations fussent faites autant que possible aseptiquement. S'il arrivait par hasard qu'une infection s'était produite, on pouvait s'en apercevoir rapidement au trouble du liquide et à l'augmentation anormale de la tension de l'anhydride carbonique.

Je ne réussis pas toujours à obtenir une suspension ne contenant qu'une seule espèce de cellules. Les tableaux suivants mentionnent quelquefois des expériences faites avec 30 % de leucocytes polynucléaires. Mais même alors nous avons encore affaire essentiellement à des cellules mononucléaires, vu le volume plus grand que ces cellules occupent par rapport aux polynucléaires.

Voici maintenant quelques tableaux relatifs à la consommation d'oxygène des cellules d'exsudat et se rapportant en premier lieu aux cellules mononucléaires, en second lieu aux polynucléaires.

Dans la ligne horizontale *a* on trouve en pourcents la tension de l'oxygène, dans la ligne *b* en mm^3 la consommation d'oxygène, et dans *c* cette valeur est rapportée à un cm^3 de leucocytes.

La tension gazeuse existant dans le liquide au début de l'expérience est égale à la pression atmosphérique, ce qui correspond donc à une teneur en oxygène de 20%. Cela fut constaté par une détermination de contrôle dans des tonomètres sans leucocytes.

TABLEAU XL.

Coagulat de leucocytes de 0.14 cm^3 contenant 100% de mononucléaires.

Consommation d' O_2 après :

Liquide.		1 h.	$2\frac{1}{2}$ h.	4 h.	$5\frac{1}{2}$ h.
I Ringer + CO_2 + 0.1% de glucose $P_H = 7.4$	<i>a</i>	16.5 %	12.2 %	7.4 %	3.2 %
	<i>b</i>	12.4 "	27.5 "	44.5 "	59.3 "
	<i>c</i>	88.5 "	196 "	317.8 "	423.5 "
		$1\frac{1}{2}$ h.	3 h.	$4\frac{1}{2}$ h.	6 h.
II Ringer + CO_2 (pas de glucose) $P_H = 7.2$	<i>a</i>	17.9 %	14.3 %	10.6 %	5.1 %
	<i>b</i>	7.2 "	18.5 "	32.1 "	51.0 "
	<i>c</i>	51.1 "	132.1 "	229.3 "	364.3 "

Voici quelques renseignements pour faire comprendre comment les chiffres donnés dans le tableau précédent furent obtenus. Au début de l'expérience la teneur en oxygène est de 20 %. Le coefficient de solubilité de l'oxygène dans l'eau, à 37.5° C. et à une pression de 760 mm. de mercure, est 0.02376, ce qui veut dire que si une certaine quantité d'eau est en contact avec de l'oxygène pur 1 cm.³ de cette eau dissout, à la température et à la pression indiquées, 23,76 mm.³ d'oxygène. La capacité du tonomètre I est de 10 cm.³. Si cette quantité d'eau était en équilibre avec de l'oxygène pur, elle contiendrait 237,6 mm.³ d'oxygène. Mais l'air ne contient que 20 % d'oxygène, de sorte que l'eau du tonomètre I ne contient que la $\frac{1}{5}$ partie environ de 237,6 mm.³ On aspire une bulle gazeuse de 116 mm.³ c. à d. $\frac{116}{5}$ mm.³ d'oxygène; le tonomètre I contient donc en tout $\frac{237.6}{5} + \frac{116}{5} = 70,6$ mm.³ d'oxygène.

Considérons maintenant les chiffres du tableau précédent que nous trouvons pour le tonomètre I après 4 h. par exemple. L'analyse de la bulle gazeuse nous apprend qu'à ce moment le tonomètre contient 7.4 % d'oxygène.

Il y a donc eu pendant ces 4 heures une consommation de 20 — 7.4 = 12.6 % d'oxygène ou $\frac{12.6}{20} + 70.6 = 44.5$ mm.³. Le coagulat de leucocytes a un volume de 0.14 cm.³. Pour un cm.³. de leucocytes la consommation en 4 h. est donc $\frac{1}{0.14} \times 44.5 = 317.8$ mm.³.

Le calcul de la production d'anhydride carbonique se fait d'une manière analogue. Le coefficient de solubilité de l'anhydride carbonique dans l'eau, à 37° C, et à 760 mm. de pression, est 0.56.

TABLEAU XLI.

Coagulat de leucocytes de 0.1 cm.³ contenant 95 % de cellules mononucléaires.

Consommation d'O₂ après:

Liquide.		1 h.	2½ h.	4 h.	5½ h.	6½ h.
I Mélange á phosphates $P_H = 7.4$	a	17.2 %	10.5 %	6.9 %	4.9 %	2.4 %
	b	9.9 "	33.5 "	47.1 "	53.3 "	62.1 "
	c	99 "	335 "	471 "	533 "	621 "
		1½ h.	3 h.	4½ h.	6 h.	7 h.
II Mélange á phosphates $P_H = 8.4$	a	15.3 %	9 %	5.2 %	2 %	0.8 %
	b	16.1 "	37.6 "	50.6 "	61.6 "	65.7 "
	c	161 "	376 "	506 "	616 "	657 "

TABLEAU XLII.

Coagulat de leucocytes de 0.3 cm³. contenant 95% de cellules polynucléaires.
Consommation d'O₂ après:

Liquide		1½ h.	3 h.	4½ h.	6 h.
I. Ringer + CO ₂ + 0.1% de glucose P _H = 7,2	a	15,6 %	12.7 %	5 %	2.3 %
	b	15.1	25.9	53	62.5
	c	50.3	86.3	176.6	208.3
		2 h.	3½ h.	5 h.	6½ h.
II. Ringer + CO ₂ (pas de glucose) P _H = 7.2	a	11.2 %	6.1 %	3 %	1.4 %
	c	30.1	47.5	58.1	63.5
	b	100.3	158.3	193.7	211.7

TABLEAU XLIII.

Coagulat de leucocytes de 0.23 cm³. contenant 97% de cellules polynucléaires.
Consommation d'O₂ après:

Lequide		1½ h.	3 h.	4½ h.	6 h.	7½ h.
I. Ringer + CO ₂ (pas de glucose) P _H = 7.	a	18.4 %	13 %	10 %	7.5 %	4.5 %
	b	5.6	24.7	35.3	44.1	54.7
	c	24.3	107.4	153.5	191.7	237.8
		1½ h.	3 h.	4½ h.	6 h.	7½ h.
II. Ringer (ni glucose ni CO ₂) P _H = 9.	a	16.6 %	8 %	3.5 %	0.2 %	0 %
	b	11.6	41	56.4	67.7	68.4
	c	50.4	178.3	280	294.3	297.4

Si nous comparons les deux premiers tableaux aux deux derniers, nous constatons que les leucocytes mononucléaires consomment un peu plus d'oxygène que les polynucléaires. Toutefois, le nombre d'expériences est trop restreint pour fournir plus que l'ordre de grandeur de la consommation d'oxygène. Je ferai cependant remarquer que, dans tous les cas, une réaction d'oxydase positive ou non ne dit rien au sujet de la consommation présumée d'oxygène des cellules.

L'influence de glucose sur la consommation d'oxygène n'est pas manifeste dans mes expériences. Dans le tonomètre I du tableau XL elle est plus grande, il est vrai, que dans le tonomètre II, mais la raison de ce fait réside peut-être dans le degré d'acidité moindre. Dans le tonomètre II du tableau XLIII avec $P_H = 9$ la consommation d'oxygène est notamment plus élevée aussi que dans le tonomètre I avec $P_H = 7$. La tension de l'anhydride carbonique devient-elle peut-être trop élevée à la fin de l'expérience, lorsque le P_H initial est déjà faible? Je l'ignore. DE HAAN ¹⁾, qui, dans ses expériences relatives à la consommation d'oxygène chez les leucocytes, constata une influence fortement activatrice de l'anhydride carbonique, suggère la question s'il s'agit là d'une action spécifique de l'anhydride carbonique ou si un degré d'acidité déterminé est nécessaire pour que la consommation d'oxygène soit maximum. Comme je l'ai déjà mentionné, c'est précisément dans du Ringer présentant la plus forte réaction alcaline que j'ai trouvé la plus grande consommation.

Que l'anhydride carbonique n'est pas indispensable comme tel pour la consommation d'oxygène, on en voit bien la preuve dans le tableau XLI, où les leucocytes mononucléaires se trouvent dans des mélanges de phosphates primaire et secondaire et atteignent des consommations qui ne sont pas inférieures à celles observées dans la solution de Ringer.

Lorsque la tension de l'oxygène devient faible à la fin de l'expérience, les cellules ne consomment plus que peu d'oxygène. Cela est vrai aussi bien pour les leucocytes mononucléaires que pour les polynucléaires. Ce fait est nettement prouvé par les nombres fournis par les tonomètres II des tableaux XLI et XLIII. Les tableaux suivants nous apprennent s'il faut en chercher la cause dans la moindre tension de l'oxygène, comme THUNBERG le montra pour des tissus et des animaux inférieurs, ou dans la faible vitalité des leucocytes à la fin de l'expérience. Ici l'oxygène est autant que possible chassé du liquide en faisant bouillir la solution de Ringer et en y faisant passer ensuite de l'azote pendant quelque temps. On aspira dans le tonomètre une bulle gazeuse formée d'azote afin de pouvoir en faire l'analyse de temps en temps. Les leucocytes frais sont donc mis ici directement dans un milieu pauvre en oxygène.

¹⁾ *Arch. Néerl. de Physiol.*, IX, 2^e livr., p. 274, 1924.

TABLEAU XLIV.

Coagulat de leucocytes de 0.065 cm.³ contenant 100 0/0 de mononucléaires.Consommation d'O₂ après :

Liquide,		0 h.	1 1/2 h.	3 h.	4 1/2 h.
I Ringer bouilli, puis traversé par N ₂ P _H = 9	a	3.2 0/0	2 0/0	0.2 0/0	0 0/0
	b	11.3 "	4.2 "	10.6 "	11.3 "
	c		25.5 "	163.1 "	173.8 "

On recommença la même expérience avec des leucocytes polynucléaires; le tableau XLV en donne le résultat.

TABLEAU XLV.

Coagulat de leucocytes de 0.24 cm.³. contenant 85 0/0 de polynucléaires :Consommation d'O₂ après :

Liquide.		0 h.	1 1/2 h.	3 h.	4 1/2 h.	6 h.
I Ringer bouilli + 0.1 0/0 de glucose P _H = 9	a	3.4 0/0	1.7 0/0	0.2 0/0	0.2 0/0	0 0/0
	b	12 "	6 "	11.3 "	11.3 "	12 "
	c		25 "	47.1 "	47.1 "	50 "
		0 h.	1 1/2 h.	3 h.	4 1/2 h.	
II Ringer bouilli + 0.1 0/0 gluc. + CO ₂ P _H = 7.4	a	2.7 0/0	1.4 0/0	0.7 0/0	0 0/0	
	b	9.2 "	4.4 "	6.8 "	9.2 "	
	c		18.3 "	28.3 "	38.3 "	

Si nous considérons les deux derniers tableaux, nous pouvons bien conclure que la tension de l'oxygène exerce une influence sur la consommation de ce gaz. La faible quantité d'oxygène présente dans les tonomètres au début de l'expérience aurait déjà été consommée, au bout d'une heure environ, aussi bien par les leucocytes mononucléaires que par les polynucléaires, si la tension avait été aussi forte que dans les tableaux précédents.

Que les leucocytes continuent à consommer de l'oxygène, sans diminution, même au bout de quelques heures, la preuve en est fournie par ce qui suit. Les cellules furent examinées ici après être restées pendant 3 1/2 h. à une température de 37° C. Les leucocytes étaient en

suspension dans du Ringer sans glucose. De temps en temps la suspension était secouée.

Au bout de $3\frac{1}{2}$ h. la suspension fut mise dans le tonomètre; l'analyse indiqua 20 % d'oxygène, ce qui correspond donc à 70,6 mm.³; 1 h. 40 min. plus tard, l'analyse donna 11,3 %, ce qui correspond à 39,9 mm.³. Les 0,32 cm.³ de leucocytes, contenant 95 % de polynucléaires, avaient donc consommé 30,7 mm.³, c. à d. 124,7 mm.³ d'oxygène par cm.³ de leucocytes, donc certainement une quantité qui n'est pas inférieure à celle que nous rencontrons dans les autres tableaux pendant les premières heures des expériences.

Examinons maintenant ce qui se passe lorsque les leucocytes se trouvent dans un milieu où il n'y a pas ou presque pas d'oxygène, c'est-à-dire à peu près dans l'état où se trouvent les exsudats dans la cavité abdominale.

Nous savons par les découvertes de PASTEUR que la vie est possible sans oxygène. On a trouvé depuis beaucoup d'exemples de cette manière de vivre. Ainsi, nous savons par les recherches de WARBURG que les cellules de carcinome possèdent, comme source d'énergie, à côté de la respiration d'oxygène, le pouvoir de scinder le glucose en acide lactique. Ces cellules vivent donc à peu près comme un bacille lactique aérobie, en partie aux dépens d'un processus d'oxydation, en partie aux dépens d'un processus de scission. On a comparé cela à la protéolyse et à la lipolyse, mais à tort, car dans ces processus il ne se libère presque pas d'énergie. Que les cellules soient réellement en état de vivre en l'absence d'oxygène, on en trouve une preuve dans ce qui suit. WARBURG laissa des cellules de carcinome pendant 24 h. dans une solution de Ringer dont tout l'oxygène avait été chassé par de l'azote. Ce n'est que dans le cas où le Ringer contenait du glucose que le tissu restait transplantable, tout comme des cellules provenant d'un milieu riche en oxygène.

Nous rencontrons également cette action glycolytique des cellules de carcinome chez d'autres tissus à croissance rapide, tels les tumeurs bénignes et le tissu embryonnaire, mais uniquement dans le cas de présence d'oxygène. Cette propriété particulière de pouvoir décomposer dans une forte mesure le glucose, même en présence d'air, WARBURG croit ne pouvoir l'accorder qu'à des tissus à croissance désordonnée, tels que les carcinomes et les sarcomes. Ainsi, dans une atmosphère d'azote, le cancer forme par heure 12 % de son poids d'acide lactique et 10 % dans une ambiance d'oxygène.

Les tissus normaux sont réduits à chercher leur énergie dans des oxydations; le carcinome, par contre, la puise dans la scission et l'oxydation.

En rapport avec les expériences de WARBURG, il était tout naturel d'étudier la formation aérobie et anaérobie d'acide lactique chez les leucocytes. Ici encore le nombre d'expériences que j'ai faites, n'est pas tout à fait suffisant pour me permettre de prononcer un jugement certain. Elles prouvent cependant que les deux espèces de cellules d'exsudat sont, dans une mesure importante, capables de former de l'acide lactique en présence ou en l'absence d'air. J'ai parfois déterminé la quantité d'acide lactique formée en la transformant en aldéhyde, afin de contrôler si la valeur correspondait à la quantité de glucose disparue et au nombre de mm.³ d'anhydride carbonique formés. Tel était en effet le cas. C'est pourquoi, je me suis contenté le plus souvent de déterminer la quantité d'anhydride carbonique produite, et souvent je complétais l'épreuve en établissant la teneur en glucose du liquide à la fin de l'expérience.

Je communique maintenant quelques tableaux relatifs à la formation anaérobie d'acide lactique par les cellules d'exsudat poly- et mononucléaires. La quantité d'oxygène encore présente dans le liquide au début de l'expérience est très faible et le plus souvent elle est complètement consommée au bout de quelques heures.

Sur la ligne *a* nous trouvons de nouveau, exprimée en pourcents, la quantité d'anhydride carbonique présente, sur la ligne *b* la même quantité exprimée en mm.³ et sur *c* cette valeur rapportée à un cm.³ de leucocytes.

Les leucocytes du tableau XLVI sont les mêmes que ceux du tableau XLV. Nous avons donc ici 0.24 cm.³ de cellules, dont 85 % de polynucléaires. Le tableau XLV fait donc connaître également la tension de l'oxygène dans le liquide.

TABLEAU XLVI.
Production d'anhydride carbonique après:

Liquide.		0 h.	1½ h.	3 h.	4½ h.	6 h.
I Ringer bouilli + 0.1% de gluc. $P_H = 9$	<i>a</i>	2.1 %	8.3 %	9.6 %	13.4 %	22.3 %
	<i>b</i>	117.9 "	348.2 "	426.2 "	634.6 "	1134.4 "
	<i>c</i>		1450.8 "	1775.8 "	2644.1 "	4726.6 "
		0 h.	1½ h.	3 h.	4½ h.	6 h.
II Ringer bouilli + 0.1 % gluc. + CO ₂ $P_H = 7.4$	<i>a</i>	10.4 %	11.7 %	16.6 %	17.9 %	22.9 %
	<i>b</i>	565.5 "	70.7 "	337.1 "	407.8 "	679.7 "
	<i>c</i>		294.6 "	1404.6 "	1699.1 "	2832 "

A la fin de l'expérience le tonomètre I contenait encore 0.025 % et le tonomètre II 0.05 % de glucose.

TABLEAU XLVII.

Coagulat de leucocytes de 0.05 cm.³ contenant 95 % de polynucléaires, dans une solution de Ringer + 0.1 % de glucose, traversée par un courant d'azote.

Production de CO₂ et consommation d'O₂ après :

		0.45 h.	2.45 h.	3.45 h.	5 h.
Production de CO ₂	a	2.3 %	7.9 %	10.4 %	12.2 %
	b	129.2 "	314.5 "	454.9 "	555.9 "
	c		6290 "	9098 "	11118 "
Consommation d'O ₂	a	4.4 %	2.2 %	0.5 %	0 %
	b	15.5 "	7.7 "	13.7 "	15.5 "
	c		151 "	274 "	310 "

Les valeurs que nous obtenons en réduisant à une quantité de leucocytes d'un cm.³ ne nous apprennent pas grand' chose, car il est probable qu'une petite quantité de leucocytes produit proportionnellement une plus grande quantité d'anhydride carbonique qu'une masse de leucocytes plus forte, parce que le degré d'acidité ne s'élève pas aussi considérablement dans le premier cas.

Les tableaux suivants donnent la production d'anhydride carbonique de suspensions formées essentiellement ou totalement de cellules mononucléaires.

TABLEAU XLVIII.

Coagulat de leucocytes de 0.4 cm.³, contenant 40 % de polynucléaires, dans une solution de Ringer + 0.1 % de glucose, traversée par un courant d'hydrogène.

Production de CO₂ et consommation d'O₂ après :

		0 h.	2.15 h.	2.22 h.	3.30 h.	4.45 h.
Production de CO ₂	a	8 %	20 %	21 %	25.7 %	28.3 %
	b	449.3 "	673.9 "	730 "	991 "	1140 "
	c		1684.7 "	1825 "	2485 "	2850 "
Consommation d'O ₂	a	2.6 %		0.9 %	0 %	
	b	9.2 "		6 "	9.2 "	
	c			15 "	23 "	

A la fin de l'expérience, le liquide contenait encore 0.04 % de glucose. Dans les tableaux où la tension de l'oxygène n'est pas indiquée, celle-ci est déjà tombée à zéro lors de la seconde analyse.

TABLEAU XLIX.

Coagulat de leucocytes de 0.11 cm³, contenant 55 % de polynucléaires, dans du Ringer + 0,1 % de glucose traversé par un courant d'azote.

Production de CO₂ après:

		0 h.	1.45 h.	4.50 h.	7.40 h.	8 h.
Production	a	9.2 %	14.5 %	30 %	33.2 %	31.5 %
de	b	525.9 "	302.9 "	1188.9 "	1371.8 "	1446 "
CO ₂	c		2754 "	10808 "	12471 "	13146 "

A la fin de l'expérience le liquide contenait encore 0.04 % de glucose.

TABLEAU L.

Coagulat de leucocytes de 0.18 cm³, contenant 30 % de polynucléaires dans du Ringer + 0.1 % de glucose, traversé par un courant d'azote.

Production de CO₂ et consommation d'O₂ après:

		0 h.	1 h.	2.40 h.	4 h.
Production	a	2 %	3.7 %	7.5 %	18.7 %
de CO ₂	b	112.3 "	95.5 "	308.9 "	937.9 "
	c		530.5 "	1716.1 "	52110.5 "
Consommation	a	1.7 %	0.6 %	0.5 "	0 %
d'O ₂	b	6 "	3.9 "	4.2 "	6 "
	c		21.6 "	23.3 "	33.3 "

A la fin de l'expérience, la solution contenait encore 0.05 % de glucose.

TABLEAU LI.

Coagulat de leucocytes de 0.22 cm³, contenant 100 % de mononucléaires, dans du Ringer + 0.1 % de glucose, traversé par de l'azote.

Production de CO₂ après:

		0 h.	1.55 h.	3 h.	4.15 h.	6.15 h.
Production	a	12.7 %	14.6 %	22.5 %	26.2 %	30 %
de CO ₂	b	690.5 "	103.3 "	532.8 "	734 "	940.6 "
	c		469.5 "	2422 "	3336 "	4275 "

A la fin de l'expérience, la solution contenait encore 0.04 % de glucose.

TABLEAU LII.

Coagulat de leucocytes de 0.2 cm³., contenant 100 % de mononucléaires, dans du Ringer + 0.1 % de glucose traversé par de l'azote.

Production de CO₂ après :

		0 h.	2.50 h.	3.40 h.	4.55 h.	5.55 h.
Production de CO ₂	a	3.5 %	14.5 %	16.3 %	20 %	24.2 %
	b	200 "	628.8 "	731.6 "	943.2 "	1183.2 "
	c		3144 "	3656 "	4716 "	5916 "

A la fin de l'expérience, la solution contenait encore 0.02 % de glucose.

Les deux derniers tableaux sont bien comparables entre eux, parce que nous y avons affaire à une quantité presque égale de matériel cellulaire, composé dans les deux cas uniquement de leucocytes mononucléaires. Nous voyons de nouveau que plus la tension initiale de l'anhydride carbonique est faible, plus la production est forte plus tard.

Que les leucocytes sont encore capables de former de l'acide lactique en l'absence d'air, cela ressort bien de mes expériences sur la consommation d'oxygène, dans lesquelles les cellules respiraient dans un liquide contenant 20 % d'oxygène. WARBURG détermina la formation aérobie d'acide lactique par des tumeurs dans du Ringer saturé d'oxygène et établit le rapport entre la quantité d'anhydride carbonique supplémentaire produite et la quantité d'oxygène consommée, ou, ce qui revient au même, le rapport de la quantité de glucose scindée à la quantité de glucose oxydée. Ce quotient Q avait, pour les différentes sortes de carcinomes, une valeur variant de 1.5 à 11,5, ce qui donne une moyenne de 3.6 environ.

Pour des tissus normaux Q était le plus souvent = 0; pour le testicule et la rétine seulement il avait une valeur plus grande: resp. 0.6 et 2.

La métabolisme des cellules d'exsudat, tout au moins celui des mononucléaires, ressemble d'une manière frappante à celui des cellules de carcinomes à croissance désordonnée. Chez ces leucocytes je trouvai pour Q une valeur de 13.

Une quantité de leucocytes de 0,2 cm³. contenant 100 % de mono-

nucléaires, produisit, dans une solution de Ringer saturée d'oxygène, en $2\frac{1}{2}$ h. 572 mm.³ d'anhydride carbonique supplémentaire. Pendant le même temps, la consommation d'oxygène comporta 43 mm.³, d'où résulte pour Q une valeur = 13.

Si nous résumons encore une fois ce que les pages précédentes nous ont appris au sujet du métabolisme des leucocytes, nous pouvons conclure que les cellules d'exsudat peuvent décomposer du glucose en acide lactique, aussi bien en présence qu'en l'absence d'air, et qu'elles présentent par conséquent beaucoup de ressemblance avec les cellules de carcinome. Des expériences ultérieures devront établir des différences entre les cellules mononucléaires et polynucléaires, également au point de vue de la consommation d'oxygène. Il est possible que des différences éventuelles entre ces cellules ne commencent à apparaître qu'au bout de quelques heures, par suite d'une inégalité dans le pouvoir de résistance.

Les leucocytes d'exsudats provenant de la cavité abdominale vivent dans un milieu très pauvre en oxygène. Le pouvoir glycolytique des cellules est peut-être une garantie pour la conservation de leur existence.

Dans ses recherches sur les causes de la migration des cellules d'exsudat, FERINGA ¹⁾ constata qu'à la suite de l'injection de toutes espèces de substances, il se forme dans la cavité abdominale des lapins une humeur dont la réaction est toujours plus acide que celle du sang. Il ne put établir une augmentation de la teneur en anhydride carbonique dans le liquide de l'exsudat. Il admet que le métabolisme des tissus a pour résultat une formation anormalement considérable d'un ou de plusieurs acides, qui consomment partiellement la réserve alcaline du liquide tissulaire et augmentent ainsi dans une mesure limitée la concentration des ions H.

Vu la pauvreté en oxygène du milieu dans lequel se trouvent les leucocytes dans la cavité abdominale et vu leur pouvoir de scinder le glucose en l'absence d'air, il est fort probable que l'acide que FERINGA croit devoir admettre, est de l'acide lactique.

¹⁾ K. J. FERINGA, Thèse de doctorat, Groningue, 1922, p. 140.

R É S U M É.

1. En laissant reposer pendant 24 h. un mélange de citrate et de plasma de sang de cheval, on peut obtenir le plus souvent une suspension de leucocytes ne contenant que des lymphocytes.

2. Le degré d'acidité est de la plus haute importance pour la motilité amiboïde des leucocytes polynucléaires, aussi bien ceux provenant de sang de cheval que ceux d'exsudats de la cavité abdominale de lapins. Les plus longs pseudopodes sont formés dans la solution de Ringer et dans les mélanges à phosphates pour un P_H inférieur à 7.4.

3. L'anhydride carbonique n'est pas un stimulant spécifique pour la formation des pseudopodes; dans les mélanges à phosphates aussi les leucocytes sont capables d'émettre de grands prolongements.

4. Les sels de sodium de certains acides gras (acide acétique, acide propionique, acide butyrique) activent aussi la formation amiboïde de prolongements, probablement parce qu'ils diminuent la tension superficielle.

5. Les molécules d'acides gras non dissociées agissent d'une manière nuisible sur le protoplasme des leucocytes.

6. Dans des solutions colloïdales (sérum, gomme arabique et gélatine) les leucocytes sont capables de former de longs pseudopodes. *Le maximum n'est pas déplacé du côté alcalin.*

7. Les leucocytes d'exsudat mononucléaires restent presque ronds dans tous les milieux examinés. Les polynucléaires, au contraire, forment de grands prolongements, même dans une solution de NaCl à 0.9 %. Ce dernier fait tient peut-être à la mort d'une partie des cellules. Les leucocytes de cheval restent ronds dans la solution de sel marin.

8. Les leucocytes mononucléaires phagocytent encore plus énergiquement que les polynucléaires de l'amidon de riz, malgré l'absence de pseudopodes. On ne peut donc pas admettre un parallélisme entre les processus de la *phagocytose* et de la *motilité amiboïde*.

9. La phagocytose des leucocytes polynucléaires par les mononucléaires ne conduit pas à une accumulation de glycogène dans ces cellules. Chimiquement on n'a pas pu décélérer de glycogène dans les cellules d'exsudat mononucléaires, bien que celles-ci donnent une réaction positive avec l'iode. *La réaction microchimique à l'iode est donc insuffisante pour prouver que les cellules contiennent, ou non, du glycogène.*

10. La consommation d'oxygène et la production d'anhydride carbonique sont du même ordre pour les cellules d'exsudat mono- et polynucléaires.

11. La tension de l'oxygène a une influence sur sa consommation; à faible tension la consommation est faible aussi.

12. Les deux espèces de cellules d'exsudat sont capables de décomposer le glucose en acide lactique aussi bien dans l'air qu'en l'absence d'air. *Pour les leucocytes mononucléaires le rapport de la quantité d'anhydride carbonique formée à la quantité d'oxygène consommée est du même ordre que celle trouvée par WARBURG pour le tissu de carcinome.*

EXPLICATION DES MICROPHOTOGRAPHIES.

Toutes les photographies se rapportent à des leucocytes d'exsudat provenant de la cavité abdominale de lapins. Grossissement Zeiss, oc. 4, obj. F.

Fig. 1. Exsudat de 24 h., contenant 20 % de mononucléaires. Les cellules sont fixées à l'acide osmique et colorées par la solution de Lugol. En *a* leucocyte mononucléaire, en *b* leucocyte polynucléaire.

Fig. 2. Exsudat de 24 h., contenant 100 % de mononucléaires. Les cellules sont fixées à l'acide osmique, pas colorées à l'iode. Le protoplasme n'est plus homogène, mais granulé. En *a* un érythrocyte.

Fig. 3. Fortes granulations dans le protoplasme du macrophage en *a*, par suite de phagocytose. Les contours de cette cellule sont ronds. La cellule polynucléaire en *b* a formé de longs pseudopodes. Les cellules sont fixées à l'acide osmique, après un séjour de 20 minutes dans du Ringer à 37° C. ($P_H=7,2$).

Fig. 4. Forte phagocytose de leucocytes polynucléaires par les leucocytes mononucléaires. En *a* et en *b* ceux-ci sont bourrés de polynucléaires.

Fig. 5. Différence dans la formation de pseudopodes entre des cellules mononucléaires et polynucléaires. Les cellules sont fixées à l'acide osmique après un séjour de 20 minutes dans du Ringer à 37° C. ($P_H=7,2$). Il y avait 20 % de mononucléaires. En *a* cellule mononucléaire, en *b* cellule polynucléaire à grands prolongements.

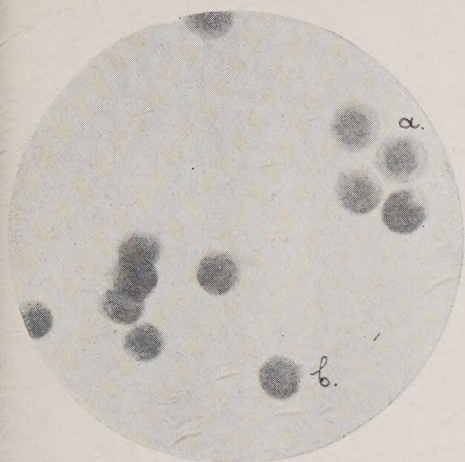


Fig. 1.



Fig. 2.



Fig. 3.

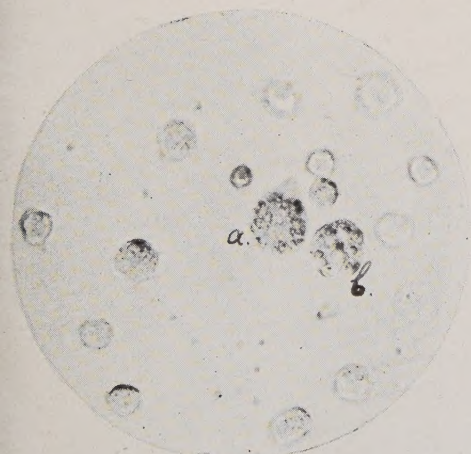


Fig. 4.



Fig. 5.

